REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Oran 1 – Ahmed Ben Bella

N° d'ordre :.....

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

Dr KHITRI Walid

Maître Assistant en Botanique Médicale

Recherche de substances actives et activité biologique d'une plante traditionnellement utilisée en médecine populaire

Soutenue publiquement le.....

Président de jury

BOUDGHENE-STAMBOULI Omar Professeur Faculté de Médecine de Tlemcen

Membres de Jury

AMIROUCHE Rachid Professeur Faculté des Sciences d'Alger, USTHB

MOUSSAOUI Nassima Professeur Faculté de Médecine d'Oran

Directeur de thèse

SMATI Dalila Professeur Faculté de Médecine d'Alger

Codirecteur de thèse

LACAILLE-DUBOIS Marie-Aleth Professeur Faculté de Médecine et de Pharmacie, Dijon

Année 2020

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée sous la direction du Professeur SMATI Dalila, Professeur de Botanique Médicale à l'Université d' Alger, Faculté de médecine, Département de Pharmacie et la codirection du Professeur Marie-Aleth LACAILLE- DUBOIS, Professeur de Pharmacognosie à l'Université de Bourgogne, UFR Sciences de Santé, Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Pharmacognosie.

Je remercie grandement madame le Professeur SMATI Dalila, ma directrice de thèse qui a accepté de dirigé ce travail, pour son soutien, son accompagnement, sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a témoignée tout au long de la réalisation de ce travail. Je ne pourrai oublier toutes ces années où vous m'avez transmis votre passion pour la Botanique Médicale, je vous exprime mes vifs remerciements.

À Madame le Professeur LACAILLE-DUBOIS Marie-Aleth, qui m'a accueilli pendant une année dans son laboratoire, a dirigé une grande partie de ce travail avec compétence, rigueur, et efficacité. Votre disponibilité et votre partage de connaissances m'ont permis de concilier avec bonheur recherche théorique et appliquée, je tiens à vous exprimer ma vive reconnaissance.

À Monsieur le Professeur BOUDGHENE STAMBOULI Omar, Professeur de Dermatologie, Faculté de Médecine de Tlemcen qui a eu l'amabilité d'accepté d'être le président du Jury, je vous exprime ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur AMIROUCHE Rachid, Professeur de Botanique, Faculté des Sciences, USTHB, qui a aimablement accepté de faire parti du Jury, je vous exprime ma profonde gratitude.

A Madame le Professeur MOUSSAOUI Nassima, Professeur de Pharmacie Galénique, Faculté de Médecine d'Oran qui m'a honoré d'avoir accepté d'examiner ce travail, je vous exprime ma sincère gratitude.

Mes remerciements vont à Madame le Professeur MITAINE-OFFER Anne-Claire, Professeur de Pharmacognosie, Université de Bourgogne, UFR Sciences de Santé, Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Pharmacognosie, pour sa gentillesse, son humilité et ses encouragements.

J'adresse ma vive reconnaissance à Dr EL GHAZI, Chef de Service d'Anatomopathologie à l'EHS pédiatrique de Canastel d'Oran pour m'avoir accueilli dans son service, pour son échange très constructif et sa précieuse aide dans la partie analyse histopathologique.

J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude au Professeur MOUSSAOUI Nassima et Docteur BENIOUDREN Fatima Zohra du Laboratoire de Pharmacie Galénique du Département de Pharmacie d'Oran pour m'avoir aidé dans la préparation des pommades.

J'adresse également de vifs remerciements à Dr. Thomas Paululat pour l'acquisition des spectres des composés.

Ma profonde reconnaissance va à Dr LACHGUEUR Nassima, Chef de service de Toxicologie à l'EHU d'Oran qui m'a toujours soutenu depuis mon arrivé au service, pour ses précieux conseils et ses encouragements.

J'adresse de chauds remerciements à ma collègue Dr NADOUR Hayet, maître assistante en Botanique Médicale, Faculté de Médecine d'Oran et à l'ensemble du personnel médical et paramédical (Dr ABDERRAHMANE. F, Dr HAMOU BOUTRIG, Dr CHABANE. A, KHALFA. A, Dr SAADI. F, Dr SID-AMAR. F) du service de Toxicologie de l'EHU d'Oran ainsi qu'à mon confrère le Dr ABDAOUI. A, maître assistant en Toxicologie à l'HMRUO, pour leurs soutiens et encouragements,

Un spécial remerciement pour toute l'équipe du Laboratoire de Pharmacognosie, UFR Sciences de Santé, Dijon : Dr Anne sophie Champy, David Pertuit, Bastien Petit, Simon, Hung pour leurs soutiens techniques, leurs encouragements et leurs amitiés.
Je tiens également à remercier l'ensemble des résidents de Botanique médicale d'Alger qui ont participé à l'enquête ethnobotanique, aux internes en pharmacie qui m'ont bien aidé dans l'expérimentation animale.

Toujours sur cette note je remercie ;

Toutes les personnes qui ont répondu favorablement au questionnaire lors de l'étude ethnobotanique, sans eux l'enquête n'aurait pu voir le jour et à vous chèrs lecteurs, qui accordez du temps et de l'intérêt à mon travail.

Le gouvernement qui m'a octroyé une bourse résidentielle à l'étranger pour la réalisation de ce travail.

Tous le personnel administratif de la faculté de Médecine d'Oran et plus particuliérement : Mme KHALFA Fatiha, chef de service de la recherche et des thèses ; Mme BENEDDINE Hada, secretaire du conseil scientifique ; Mme BENKAHLA Fatima, chef de service de la bibliothèque.

Par-dessus tout, je loue DIEU tout puissant qui m'a donné la force, la santé, et la persévérance durant la réalisation de ce travail de thèse.

DEDICACES

A mes parents

A mes beaux parents

A ma chère femme, ma moitié, mon soutien et mon équilibre

TABLE DES MATIERES

Liste des acronymes et abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction-Problématique

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Etude botanique

1.1 Flore Algérienne 4

1.2 Ordre des Lamiales 4

1.3 Famille des Lamiaceae 4

1.4 Systématique des Lamiaceae 5

1.4.1 Répartition géographique 5

1.4.2 Appareil végétatif et anatomie 5

1.4.3 Appareil reproducteur 5

1.5 Genre Phlomis 6

1.5.1 Distribution 6

1.5.2 Usage en médecine traditionnelle 6

Chapitre 2 : Travaux phytochimiques et biologiques antérieurs

2.1 Les iridoides 7

2.1.1 Définition 7

2.1.2 Distribution 8

2.1.3 Structure des iridoides 8

2.1.4 Iridoïdes de la famille des Lamiaceae 9

2.1.5 Iridoïdes isolés du genre Phlomis 10

2.1.6 Activités biologiques 12

2.2 Phényléthanoïdes 14

2.2.1 Distribution 14

2.2.2 Structure des phényléthanoïdes 14

2.2.3 Phenylethanoides de la famille des Lamiaceae 16

2.2.4 Phenylethanoides du genre Phlomis 16

2.2.5 Activités biologiques 16

2.3 Mégastigmanes 17
2.3.1 Définition 17
2.3.2 Distribution 17
2.3.3 Structure des mégastigmanes 17
2.3.4 Mégastigmanes du genre Phlomis 17
2.3.5 Activités biologiques 18
2.4 Lignanes 19
2.4.1 Définition 19
2.4.2 Distribution 19
2.4.3 Structure des lignanes 19
2.4.4 Lignanes de la famille des Lamiaceae 20
2.4.5 Lignanes du genre Phlomis 20
2.4.6 Activités biologiques des lignanes 21
2.5 Autres métabolites secondaires 22
2.5.1 Flavonoïdes 22
2.5.2 Huiles essentielles 22
2.6 Travaux phytochimiques antérieurs de l'espèce *Phlomis bovei* de Noé 23
2.7 Travaux biologiques antérieurs du genre Phlomis et de l'espèce *P.bovei* de Noé 24
Chapitre 3 : Rappel - Peau et cicatrisation
3.1 Définition 25
3.2 Histologie cutanée 25
3.2.1 L'épiderme 25
3.2.2 La jonction dermo- épidermique 27
3.2.3 Le derme 27
3.2.4 L'hypoderme 27
3.2.5 Les annexes cutanées 27
3.3 Caractéristiques de la peau murine 28
3.4 La cicatrisation 28
3.4.1 La phase d'hémostase 29
3.4.2 La phase inflammatoire 30
3.4.3 La phase proliférative 31
3.4.4 La phase de remodelage 33

PARTIE PRATIQUE

Chapitre 1 : Enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes

1.1 Population et méthodes 36
1.1.1 Population 36
1.1.2 Méthodes 36
1.1.3 Traitement des données 38
1.1.4 Calculs d'indices 39
1.1.4.1 Fréquence de citation 39
1.1.4.2 Fréquence relative de citation 39
1.1.4.3 Valeur d'usage 39
1.1.4.4 Facteur consensuel de l'informateur 39
1.1.4.5 Niveau de fidélité (NF) ou indice de Fidélité (FL) 40
1.2 Résultats et discussions 41
1.2.1 Taux de participation à l'enquête ethnobotanique 41
1.2.2 Répartition selon le sexe 41
1.2.3 Répartition selon la tranche d'âge 42
1.2.4 Répartition selon le niveau d'éducation 42
1.2.5 Formation des herboristes 43
1.2.6 Expérience professionnelle des herboristes 43
1.2.7 Répartition de la population selon l'utilisation des plantes médicinales 44
1.2.8 Répartition des habitants selon la situation professionnelle et financière 44
1.2.9 Répartition selon l'habitat 44
1.2.10 Répartition des habitants selon les circonstances d'utilisations des plantes 45
1.2.11 Répartition des habitants selon les causes du recours à la phytothérapie 45
1.2.12 Répartition des habitants selon leurs sources des connaissances 45
1.2.13 Répartition des habitants selon la conduite à tenir devant une atteinte cutanée 46
1.2.14 Biodiversité 46
1.2.15 Calculs d'indices 52
1.2.16 Répartition des plantes selon la partie utilisée 58
1.2.17 Répartition des plantes selon le mode de préparation 58
1.2.18 Répartition des plantes selon le mode d'administration 59
1.2.19 Répartition des plantes selon leurs posologies 59
1.2.20 Répartition des plantes selon la toxicité signalée 60

1.2.21 Anomalies enregistrés lors de l'enquête 61
1.2.22 Choix de la plante étudiée 61
Chapitre 2 : Etude botanique du *Phlomis bovei* de Noé
2.1 Matériels et méthodes 62
2.1.1 La récolte 62
2.1.2 Le séchage et la conservation 63
2.1.3 Etude botanique du *Phlomis bovei* de Noé 63
2.1.3.1 Etude morphologique 63
2.1.3.2 Etude histo-anatomique 63
2.1.3.3 Etude palynologique 64
2.1.3.4 Etude de la poudre 64
2.2 Résultats et discussions 65
2.2.1 Etude morphologique du *Phlomis bovei* de Noé 65
2.2.2 Etude histoanatomique 68
2.2.3 Etude palynologique 78
2.2.4 Etude de la poudre 79
2.3 Conclusion de l'étude botanique 82
Chapitre 3 : Etude phytochimique du *Phlomis bovei* de Noé
3.1 Matériels et méthodes 83
3.1.1 Etude phytochimique préliminaire 83
3.1.1.1 Recherche des alcaloïdes 83
3.1.1.2 Recherche des flavonoïdes 83
3.1.1.3 Recherche des tanins 83
3.1.1.4 Recherche des saponosides 84
3.1.1.5 Recherche des anthracénosides 85
3.1.1.6 Recherche des hétérosides cardiotoniques 85
3.1.1.7 Recherche des mucilages 85
3.1.1.8 Recherche des coumarines 85
3.1.1.9 Recherche des terpènes et stéroïdes 85
3.1.2 Dosage des Polyphénols, des flavonoïdes et des tanins 86
3.1.2.1 Extraction 86
3.1.2.2 Dosage des polyphénols totaux 86
3.1.2.3 Dosage des flavonoïdes 87

3.1.2.4 Dosage des Tanins condensés 88
3.1.3 Phytochimie extractive et structurale 89
3.1.3.1 Extraction 89
3.1.3.2 Méthodes chromatographiques analytiques 92
3.1.3.2.1 Chromatographie sur couche mince 92
3.1.3.3 Méthodes chromatographiques préparatoires 92
3.1.3.3.1Chromatographie d'exclusion moléculaire 92
3.3.3.3.2 Chromatographie liquide sous vide (VLC) 93
3.1.3.3.3 Chromatographie flash 93
3.1.3.3.4 Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC) 94
3.1.3.3.4.1 MPLC en phase normale 94
3.1.3.3.4.2 MPLC en phase inverse RP18 94
3.1.4 Déterminations structurales des composés purifiés 94
3.1.4.1 La spectrométrie de masse 94
3.1.4.2 Résonance magnétique nucléaire 96
3.1.4.2.1 Matériel 96
3.1.4.2.2 Les spectres monodimensionnels 96
3.1.4.2.2.1 RMN- 1H 96
3.1.4.2.2.2 RMN-13C 97
3.1.4.2.2.3 Le spectre DEPT 97
3.1.4.2.3 Les spectres bidimensionnels 97
3.1.4.2.3.1 RMN bidimensionnelle Hétéronucléaire 97
3.1.4.2.3.1.1 Héteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) 97
3.1.4.2.3.1.2 Héteronuclear Multiple-Bond Correlation (HMBC) 97
3.1.4.2.3.2 RMN bidimensionnelle Homonucléaire 98
3.1.4.2.3.2.1 Correlated Spectroscopy (COSY) 98
3.4.1.2.3.2.2 Total Correlation Spectroscopy (TOCSY) 98
3.4.1.2.3.2.3 Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy (ROESY) 98
3.2 Résultats et discussions 100
3.2.1 Recherche phytochimique préliminaire 100
3.2.2 Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins 101
3.2.3 Phytochimie extractive et structurale 105
3.2.3.1 Rendement d'extraction 105

3.2.3.2 Elucidation structurale 105
3.2.3.2.1 Description du composé 1 106
3.2.3.2.2 Description du composé 2 110
3.2.3.2.3 Description du composé 3 113
3.2.3.2.4 Description du composé 4 117
3.2.3.2.5 Description du composé 5 120
3.2.3.2.6 Description du composé 6 124
3.2.3.2.7 Description du composé 7 129
3.2.3.2.8 Description du composé 8 133
3.2.3.2.9 Description du composé 9 137
3.2.3.2.10 Description du composé 10 141
3.2.3.2.11 Description du composé 11 145
3.2.3.2.12 Description du composé 12 148
3.2.3.2.13 Description du composé 13 153
3.2.3.2.14 Description du composé 14 157
3.2.3.2.15 Description du composé 15 161
3.2.3.2.16 Description du composé 16 165
3.2.4 Chimiotaxonomie 170

Chapitre 4 : Activités biologiques

4.1 Matériels et méthodes 174
4.1.1 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *P.bovei* 174
4.1.1.1 Principe du test de DPPH 174
4.1.1.2 Mode opératoire 174
4.1.2 Evaluation de l'activité cicatrisante 175
4.1.2.1 Matériels 175
4.1.2.2 Méthodes 176
4.1.2.2.1 Préparation de l'extrait 176
4.1.2.2.2 Préparation des pommades 176
4.1.2.2.3 Contrôle qualité des pommades 177
4.1.2.2.3.1 Caractères organoleptiques 177
4.1.2.2.3.2 Homogénéité 177
4.1.2.2.3.3 Mesure du pH 177
4.1.2.2.3.4 Test de stabilité 177

4.1.2.2.4 Test de tolérance cutanée (IP) 178
4.1.2.2.5 Protocole de l'évaluation de l'activité cicatrisante 179
4.1.2.2.5.1 Mode opératoire 180
4.1.2.2.5.2 Evaluation macroscopique 181
4.1.2.2.5.3 Étude planimétrique 181
4.1.2.2.5.4 Etude histologique 182
4.1.2.2.5.5 Analyses biochimiques 184
4.1.3 Activité antioxydante des molécules pures et approche de la relation structure-activité 185
4.1.4 Analyse statistique 185
4.2 Résultats et discussions 186
4.2.1 Evaluation de l'activité antioxydante 186
4.2.2 Evaluation de l'activité cicatrisante 188
4.2.3 Activité antioxydante des composés isolés et approche de la relation structure-activité 201
Conclusion et perspectives 204
Annexe 1 : Préparations des réactifs 229
Annexe 2 : Questionnaire de l'étude ethnobotanique 231
Annexe 3 : Calcul du score utilisé lors de l'évaluation macroscopique de la cicatrisation 233
Annexe 4 : Spectres RMN des composés isolés 238
Annexe 5 : Publication 284

ACRONYMES ET ABREVIATIONS

µg : microgramme

^{13}C : Isotope du carbone avec une masse de 13 amu (atomic mass unit)

1D : Monodimensionnel

^{1}H : Proton

2D : Bidimensionnel

AFA : Alcool formolé acétique

AG : Acide gallique

$AlCl_3$: Chlorure d'aluminium

APG: Angiosperm Phylogeny Group

bFGF : basic fibroblast growth factor

BHT: Butyl-hydroxy-toluène

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

$CDCl_3$: Chloroforme deutéré

CD_3OD : Methanol deutéré

$CHCl_3$: Chloroforme

C.F: Cicatrice fibreuse

cm: centimetre

COSY: COrrelated SpectroscopY

COX : Cyclooxygénase

CRP : Protéine C réactive

d: doublet

dd: doublet de doublet

DEPT: Distorsionaless Enhancement by Polarization Transfert

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EC50 ou **IC50 :** Concentration efficace ou concentration inhibitrice nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres.

EFL : Enduit fibrino-leucocytaire

EGF : Epidermal Growth Factor

ESI : ElectroSpray Ionization

EtOH: Ethanol

FC: Fréquence de citation

FCI: Facteur consensual de l'informateur

FDA : Food and Drug Administration

$FeCl_3$: Chlorure ferrique

FGFb : Fibroblast growth factor

FL: Indice de fidélité

g: gramme

GAG: Glycosaminoglycanes

Glc: Glucose

H: Heure

H_2O: Eau

H_2SO_4: Acide sulfurique

HCL: acide chlorhydrique

H/E: Hématoxyline/Eosine

HMBC: Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

HPTLC: High Performance Thin Layer Chromatography

HR-ESI: High Resolution- ElectroSpray Ionization

HSQC: Heteronuclear Single-Quantum Correlation spectroscopy

Hz: Herzt

IGF : insulin-like growth factor

IL: Interleukine

IP : Indice d'irritation de la peau

ISE: International Society of Ethnobiology

***J* :** Constante de couplage mesurée en Hz

LPS : Lipopolysaccharide

MAC : Macrophage

MEC : Matrice extracellulaire

m : multiplet

***m/z* :** rapport masse / charge élémentaire de l'ion

MeOH : méthanol

MHz : mégaherzt

min : minutes

mg : milligramme

ml : millilitre

mM : millimole

MPLC: Chromatographie liquide à moyenne pression)

NH_4OH: ammoniaque

nm: nanomètre

NO: oxyde nitrique

OCDE : organisation de coopération et de développement économiques

OH: hydroxyle

P.base: Pommade de base sans extrait de plante

PbF1%: Pommade à base d'extrait de feuilles de *Phlomis bovei* à 1%

PbF5%: Pommade à base d'extrait de feuilles de *Phlomis bovei* à 5%

PDGF : Platelet-derived growth factor

pH : potentiel hydrogène

PhG : Phenylethanoide glycoside

PNN : Polynucléaires neutrophiles

ppm : parts per million

REF : Groupe référence traité avec du Madécassol.

RFC : Fréquence de citation relative.

Rha : Rhamnose

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RP: Reversed Phase

s: singulet

SD: Standard deviation

Si: Silice

SM: Mass Spectrometry

TGF: Transforming Growth Factor

TIMP : Tissue inhibitors of metalloproteinases

TLC: Thin Layer Chromatography

TOCSY : Total COrrelation SpectroscopY

TNF : Tumor necrosis factor

TXA2 : Thromboxane A2

UV : Ultraviolet

UV : Valeur d'usage

VEGF : Vascular endothelial growth factor

Vit C: Vitamine C ou acide ascorbique

VLC : Vacuum Liquid Chromatography (chromatographie liquide sous vide)

vs: Versus

Xyl : Xylose

δ : Déplacement chimique mesuré en ppm

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux iridoides retrouvés dans le genre *Phlomis* 11
Tableau 2 : Principaux phényléthanoïdes retrouvés dans le genre *Phlomis*.....16
Tableau 3: Principaux mégastigmanes retrouvés dans le genre *Phlomis*.....18
Tableau 4: principaux lignanes retrouvés dans le genre *Phlomis* 21
Tableau 5 : Flavonoïdes isolés du genre *Phlomis*.....22
Tableau 6 : Activités biologiques du genre *Phlomis*.....24
Tableau 7 : Localisation des régions d'études 36
Tableau 8 : Répartition de la population d'étude par ville 38
Tableau 9 : Répartition de la population selon la tranche d'âge.....42
Tableau 10 : Répartition des herboristes selon l'expérience professionnelle.....43
Tableau 11 : Répartition des habitants selon l'utilisation des plantes 44
Tableau 12 : Répartition des habitants selon la situation professionnelle et financiére.....44
Tableau 13: Répartition de la population d'étude selon l'habitat 44
Tableau 14 : Répartition des habitants selon les circonstances d'utilisations des plantes 45
Tableau 15 : Répartition des habitants selon les causes du recours à la phytothérapie 45
Tableau 16 : Répartition des habitants selon leurs sources de connaissances.....45
Tableau 17 : Répartition des habitants selon la conduite à tenir lors d'une atteinte cutanée ..46
Tableau 18: Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle algérienne 48
Tableau 19: Principales plantes à indice de fidélité élevé.....56
Tableau 20: Facteur consensuel de l'informateur FCI 57
Tableau 21: Répartition des plantes selon le mode de préparation.....59
Tableau 22: Répartition des plantes selon leurs posologies 60
Tableau 23 : Types de toxicités signalées 60
Tableau 24: Gamme des dilutions du décocté pour la mesure de l'indice de mousse.....84
Tableau 25 : Gamme étalon de l'acide gallique 87
Tableau 26 : Gamme étalon de la rutine.....88
Tableau 27 : Gamme étalon de la catéchine 88
Tableau 28: Résultats des réactions de caractérisation phytochimique. 100
Tableau 29: Dosage des polyphénols dans les feuilles de *P.bovei*. 102
Tableau 30: Dosage des flavonoïdes dans les feuilles du *P.bovei.* 103
Tableau 31 : Dosage des tanins dans les feuilles du *P.bovei.*.....104
Tableau 32 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **1** 109

Tableau 33: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **2** 112
Tableau 34 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **3** 116
Tableau 35 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **4** 119
Tableau 36: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **5** 123
Tableau 37 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **6** 128
Tableau 38: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **7** 132
Tableau 39 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **8** 136
Tableau 40: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **9** 140
Tableau 41 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **10** 144
Tableau 42: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **11** 147
Tableau 43 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **12** 152
Tableau 44 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **13** 156
Tableau 45: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **14** 160
Tableau 46 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **15** 164
Tableau 47: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **16** 168
Tableau 48: Composés isolés du genre *Phlomis*.....172
Tableau 49: Appréciation de l'oedème et l'erythème selon l'échelle de DRAIZE**.**.....179
Tableau 50: Valeurs numériques attribués aux paramètres de cicatrisation.....181
Tableau 51: Concentration efficace (IC 50) des extraits de feuilles de *P.bovei*.....187
Tableau 52: Formules galéniques de préparation des pommades.....188
Tableau 53 : Résultats des examens macroscopique des pommades.....188
Tableau 54 : Contrôle de l'homogénéité des pommades.....189
Tableau 55: Résultats du test de stabilité réalisé après 30 jours de conservation des pommades préparés......190
Tableau 56: Résultats du test de tolérance cutanée.....190
Tableau 57: Moyennes des scores calculés dans les differents groupes 191
Tableau 58: Moyennes des pourcentages de réduction de la surface des plaies des différents lots suivis par planimétrie 192
Tableau 59 : Effet de l'application locale de la pommade de *P.bovei* sur la teneur en hydroxyproline 200
Tableau 60: Résultats du dosage du CRP 200
Tableau 61 : Concentrations efficaces (IC50) des composés isolés 203

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Distribution mondiale des Lamiaceae 5
Figure 2: Structure du noyau de base iridane. 7
Figure 3: Structure d'un iridodial en équilibre avec sa forme lactone. 8
Figure 4 : Structures chimiques de quelques iridoides 10
Figure 5: Les iridoides retrouvés chez les Lamiaceae 10
Figure 6: Tyrosol, simple PhG. 14
Figure 7: Structure des acides aromatiques 15
Figure 8 : Principaux sucres rencontrés dans les PhG. 15
Figure 9: Squelettes de base des mégastigmane 17
Figure 10 : Dimérisation des phénylpropanoides 20
Figure 11 : Structures chimiques de base des lignanes retrouvées chez les Lamiaceae 20
Figure 12 : Les principaux monoterpènes présents dans les huiles essentielles de Lamiaceae. 23
Figure 13 : Les principaux sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles de Lamiaceae. 23
Figure 14 : Structure de la peau 25
Figure 15 : Représentation schématique des principales étapes de la différenciation épidermique 26
Figure 16 : Chronologie des différentes phases de cicatrisation physiologique 29
Figure 17 : Illustration de la phase d'inflammation 30
Figure 18 : Illustration de la phase de prolifération 31
Figure 19 : Localisation des régions d'études 37
Figure 20 : Taux de participation à l'étude. 41
Figure 21 : Répartition de la population d'étude selon le sexe 41
Figure 22 : Répartition de la population selon le niveau d'éducation 42
Figure 23: Répartition des herboristes selon la formation 43
Figure 24 : Répartition des plantes médicinales selon la fréquence des familles botaniques 46
Figure 25 : Les plantes cicatrisantes les plus citées 53
Figure 26 : Valeurs d'usage 55
Figure 27 : Répartition des plantes selon la partie utilisée 58
Figure 28 : Répartition des plantes selon le mode d'administration 59
Figure 29 : Localisation géographique des deux lieux de récolte 62
Figure 30 : Appareil végétatif du *P. bovei*. 65
Figure 31 : Appareil reproducteur du *P. bovei* 67
Figure 32 : Diagramme floral de P.bovei 68
Figure 33 : Coupe transversale d'une racine agée de *P.bovei,* 3 mm de diamètre, vue générale 69
Figure 34 : Coupe transversale d'une racine agée de *P.bovei,* détail de la zone corticale 69
Figure 35 : Coupe transversale d'une racine agée de *P.bovei, détail des tissus conducteurs* *70*
Figure 36 : Coupe transversale d'une racine agée de *P.bovei,* détail du bois 70
Figure 37 : Coupe transversale de la tige agée de P.bovei, 3 mm de diamètre, vue générale 71

Figure 38 : Coupe transversale d'une tige agée de *P.bovei,* détail de l'écorce 71
Figure 39 : Coupe transversale d'une tige agée de *P.bovei,* détail du cylindre central.....72
Figure 40 : Coupe transversale d'une tige agée de *P.bovei,* détail des tissus conducteurs 72
Figure 41: Coupe transversale d'une tige agée de *P.bovei*, détail de l'endoderme et des fibres scléreuses 73
Figure 42: Coupe longitudinale de la tige âgée de *P.bovei,* vue générale.....73
Figure 43: Coupe longitudinale de la tige âgée de *P.bovei* 74
Figure 44: Poil à pied long bicellulaire et tête pluricellulaire 75
Figure 45: Poil à pied court unicellulaire et tête pluricellulaire 75
Figure 46: Poils tecteurs : A : poil tecteur étoilé, B : poil tecteur ramifié.....75
Figure 47 : Coupe transversale de la feuille, vue générale.....76
Figure 48 : Limbe de la feuille 76
Figure 49: Différents types de poils rencontrés dans la feuille de *P.bovei* 77
Figure 50 : Grains des pollens de P.bovei obtenus selon la méthode WODEHOUSE 79
Figure 51 : Grains des pollens de P.bovei obtenus selon la méthode d'EDTMAN.....79
Figure 52 : Elements caractéristiques de la poudre de feuille de *P.bovei* 80
Figure 53 : Elements caractéristiques de la poudre de tige de *P.bovei* 81
Figure 54: Schéma d'extraction, de purification et d'isolement des composés purs à partir des feuilles de *P.bovei*.....90
Figure 55: Schéma d'extraction, de purification et d'isolement des composés purs à partir des racines de *P.bovei*.....91
Figure 56: Mécanisme de l'ionisation par électrospray 95
Figure 57 : Corrélations COSY 98
Figure 58 : Corrélations TOCSY.....98
Figure 59: Les corrélations observées à l'aide de différentes experiences bidimentionnelles 99
Figure 60: Rendement d'extraction 101
Figure 61: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (765 nm) 101
Figure 62: Courbe d'étalonnage de la rutine (415 nm) 103
Figure 63: courbe d'étalonnage de la catéchine (550 nm) 104
Figure 64: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **1** 106
Figure 65: Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **1**.....107
Figure 66 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **1.**.....108
Figure 67: Structure du composé naturel **1**. 109
Figure 68 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **2**.....111
Figure 69: Structure chimique du composé naturel **2.**.....111
Figure 70 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **2.** 112
Figure 71: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **3** 113
Figure 72: Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **3**.....114

Figure 73 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **3.** 115
Figure 74: Structure chimique du composé naturel **3** 116
Figure 75: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **4** 117
Figure 76: Spectre HSQC du composé **4.** 118
Figure 77: Structure chimique du composé naturel **4.** 120
Figure 78: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **5** 120
Figure 79 : Spectre HSQC du composé **5.** 121
Figure 80: Structure chimique du composé naturel **5** 123
Figure 81 : Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **6** 124
Figure 82: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **6** 124
Figure 83 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **6**.....125
Figure 84 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **6.** 127
Figure 85: Structure chimique du composé naturel **6** 127
Figure 86: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **7** 129
Figure 87 : Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **7** 129
Figure 88 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **7** 130
Figure 89 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **7.** 131
Figure 90: Structure chimique du composé naturel **7** 131
Figure 91: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **8** 133
Figure 92: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **8** 133
Figure 93 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **8**.....134
Figure 94 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **8.** 135
Figure 95: Structure chimique du composé naturel **8** 135
Figure 96: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **9** 137
Figure 97: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **9** 137
Figure 98 : Spectre HSQC du composé **9.** 138
Figure 99: Structure chimique du composé naturel **9** 139
Figure 100: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **10**.....141
Figure 101: Spectre de masse ESI-MS en mode négatif du composé **10**.....141
Figure 102 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **10** 142
Figure 103 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **10.**.....143
Figure 104: Structure chimique du composé naturel **10** 143
Figure 105: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **11**.....145
Figure 106 : Spectre HSQC du composé **11.**.....146
Figure 107: Structure chimique du composé naturel **11** 148
Figure 108: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **12**.....149
Figure 109 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **12** 150
Figure 110: Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **12.**.....150

Figure 111: Structure chimique du composé naturel **12** 152
Figure 112: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **13**.....153
Figure 113: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **13** 153
Figure 114 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **13.** 154
Figure 115 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **13**.....155
Figure 116: Structure chimique du composé naturel **13** 155
Figure 117: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **14**.....157
Figure 118: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **14** 157
Figure 119 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **14.** 158
Figure 120 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **14.**.....159
Figure 121: Structure chimique du composé naturel **14** 159
Figure 122: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **15**.....161
Figure 123: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **15** 161
Figure 124 : Spectre HSQC du composé **15.** 162
Figure 125: Structure chimique du composé naturel **15** 163
Figure 126: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **16**.....165
Figure 127: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **16** 165
Figure 128 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **16.**.....166
Figure 129 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **16.** 167
Figure 130: structure chimique du composé naturel **16** 167
Figure 131 : Principe de la réduction du radical DPPH 174
Figure 132 : Test de tolérance cutanée 178
Figure 133 : Répartition des rats dans des groupes étiquetés 180
Figure 134 : Préparation des coupes histologique. 184
Figure 135: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et le BHT. 186
Figure 136 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits de feuilles. 187
Figure 137 : Examen microscopique des pommades 189
Figure 138: Evolution des plaies de chaque lot en fonction du temps 193
Figure 139 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 4 éme jour 195
Figure 140 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 8 ^{éme} jour. 196
Figure 141 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 12 ^{éme} jour 197
Figure 142 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 20^{éme} jour 198
Figure 143 : Courbe d'étalonnage de l'hydroxyproline (557 nm) 199
Figure 144 : Activité antioxydante des composés isolés 203

INTRODUCTION - PROBLEMATIQUE

L'utilisation des plantes médicinales est connue pour améliorer et rétablir la santé de l'homme. Depuis fort longtemps, elles sont exploitées à tous les niveaux, notamment dans le domaine médical. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des millénaires.

En 1895, John William Hershberger, un botaniste américain, a attribué le terme « Ethnobotanique » à la relation qui existe entre l'Homme et les plantes **(Prance, 1991, Rahul, 2013, Rahman et al., 2019).**

Une recherche en ethnobotanique repose principalement sur les résultats d'enquêtes de terrain ainsi que sur le recueil des données bibliographiques. Ces enquêtes sont généralement menées sous forme d'entretiens et d'observations des pratiques auprès de personnes ressources, identifiées comme ayant un savoir faire relatif au végétal **(Bellakhdar, 1997).**

Les résultats de ces recherches, peuvent non seulement avoir un intérêt patrimonial évident, dans le sens où cela permet de conserver les connaissances ancestrales puisque celles-ci sont verbalement transmises d'une génération à une autre, mais peuvent également intéresser le secteur industriel en quête de nouvelles molécules **(Mostafa, 2018)**, ainsi, l'ethnobotanique a permis la découverte de nouveaux médicaments tels que la Digoxine du *Digitalis purpurea* L., l'Atropine de l'*Atropa belladonna* L., la Colchicine de *Colchicum autumnale* L., la Quinine de *Cinchona calisaya* Wedd., la Morphine de *Papaver somniferum* L., la Théophylline de *Theobroma cacao* L.,... **(Pandey et Tripathi, 2017)**. On estime que 75% des médicaments sur ordonnance contiennent des substances actives d'origine végétale.

Malgré l'utilisation répandue des ressources végétales en médecine traditionnelle, très peu d'espèces de plantes ont été soumises à une évaluation de leurs activités biologiques pour étudier leurs propriétés médicinales et déterminer l'innocuité et l'efficacité des remèdes traditionnels.

Les composés produits par les plantes ont été séparés en métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont des molécules qui existent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à la vie de la plante telle que les glucides, les lipides, et les protéines. Les métabolites secondaires quant à eux ont une répartition limitée, ces derniers semblent intéresser le secteur pharmaceutique car ils sont dotés d'activités biologiques diverses **(Miao et al., 2019)**. Certains en font de bons marqueurs chimiotaxonomiques propres à une espèce, un genre, une famille ou un ordre **(Nidhal et al., 2020)**.

Concernant notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante utilisée en médecine traditionnelle pour son activité cicatrisante.

Une plaie peut être décrite comme une lacération ou une rupture de la surface de la peau causée par une blessure thermique ou physique **(Fox et al., 2017)**. Elle a un impact important sur la santé publique et les dépenses de santé **(Fikru et al., 2012).**

La cicatrisation des plaies est un processus biologique complexe et dynamique impliquant une cascade d'interactions tissulaires pour restaurer l'intégrité de la peau et l'homéostasie après une blessure. Ce processus a deux rôles principaux, la lutte contre les infections et la réparation des tissus **(Ben Djemaa et al., 2016)**. La cicatrisation est un phénomène naturel, mais elle peut manquer de qualité, de rapidité de guérison et d'esthétique **(Biswas et al., 2017).**

L'organisation mondiale de la santé (OMS) reconnaît le potentiel des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et considère qu'il s'agit d'une source importante pour évaluer leur efficacité et leur sécurité **(WHO, 2002).**

Bien que les plantes cicatrisantes puissent offrir une approche sûre et peu coûteuse dans le traitement des plaies et des brûlures, les recherches restent insuffisantes pour plusieurs raisons. L'une des raisons est que ces pathologies ne font pas partie des maladies prioritaires de l'OMS, et d'un autre côté, l'opinion généralement répandue selon laquelle on considère que les remèdes traditionnels sont les mieux adaptés aux pathologies chroniques plutôt qu'aux traitements des maladies aiguës. Seulement 1 à 3% des médicaments à usage cicatrisant sont cités dans la pharmacopée européenne **(Fikru et al., 2012, Lordani et al., 2018).**

Certaines substances dérivées de plantes ont un potentiel thérapeutique considérable et devraient donc être étudiées pour la découverte de nouvelles molécules dans le traitement des plaies et des brûlures cutanées **(Fox et al., 2017)**, c'est le cas des composés triterpéniques tels que l'acide asiatique, l'acide madécassique et le madécassoside isolés de *Centella asiatica* (L.) Urb. (Apiaceae) dont l'extrait est commercialisé sous le nom de Madécassol® et de l'allantoïne retrouvé dans les racines de la grande consoude *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae) et dans les graines de céréales commercialisés sous le nom de Cicatryl®.
Il a été démontré qu'un grand nombre de métabolites secondaires améliorent la cicatrisation des plaies. On peut citer le β-sitostérol, l'acide gallique, la curcumine , l'acide caféique, la catéchine et la myricétine **(Chingwaru et al., 2019).**

Ce travail de thèse a été mené dans l'objectif principal de vérifier l'usage traditionnel d'une plante utilisée par la population locale à travers un screening phytochimique et pharmacologique.

Pour atteindre cet objectif, notre travail s'est articulé autour de deux principaux axes :

- Une synthèse bibliographique relative à la famille des Lamiaceae et au genre Phlomis, ainsi que sur les travaux phytochimiques et biologiques antérieurs.
- Une partie pratique qui concerne l'enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes utilisées en médecine populaire, l'étude botanique et phytochimique du *Phlomis bovei* de Noé, ainsi que l'évaluation *in vivo* de l'activité cicatrisante et *in vitro* de l'activité antioxydante.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Etude botanique

1.1 Flore Algérienne

La flore algérienne est estimée à 3232 espèces **(Quézel et Santa, 1963)**, et se différencie à travers le territoire selon un gradient climatique. Le nombre d'espèces endémique se situe au environ de 250 espèces, soit environ 8% de la flore totale. La majorité de ces espèces appartiennent à l'élément méditerranéen.

Les endémiques Sahariennes sont en nombres de 64, les endémiques algéro-tunisiennes au nombre de 50 et les endémiques algéro- marocaines au nombre de 104 **(Anonyme, 2006).**

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une espèce de la famille des Lamiaceae.

1.2 Ordre des Lamiales

L'ordre des Lamiales comprend 24 familles, 1 059 genres et plus de 23 755 espèces **(Stevens, 2001).** Les principales familles qui sont incluses sont les Lamiaceae, les Verbenaceae, les Plantaginaceae, les Scrophulariaceae, les Orobanchaceae, les Acanthaceae, les Gesneriaceae, les Bignoniaceae, les Oleaceae, les Pedaliaceae et les petites familles carnivores Lentibulariaceae et Byblidaceae **(Dupont et Guignard, 2012).**

Selon la classification phylogénétique APG IV, 2016 (Angiosperm Phylogeny Group), l'ordre des Lamiales appartient au Euastéridées I. L'ordre est très hétérogène mais toutefois présente des caractères communs entre les familles. Par exemple, les hydrates de carbone sont stockés sous forme d'oligosaccharides et non pas sous forme d'amidon.

1.3 Famille des Lamiaceae

C'est la famille du Thym, du Romarin et de la Lavande. C'est l'une des plus grandes familles d'Angiospermes comprenant 236 genres et plus de 7 000 espèces **(Frezza et al., 2019a)**. L'Algérie compte 36 genres et 183 espèces dont 19 sont endémiques.

L'étymologie du nom "Lamiaceae" vient du grec « laimos » qui signifie "mâchoire" et se réfère à la capacité des fleurs de ces plantes à avaler de petits insectes après leur entrée dans la corolle, alors que, «Labiatae» vient du mot latin «labia», qui signifie «lèvre», et renvoie à la caractéristique morphologique particulière de toutes les espèces appartenant à cette famille, qui présente une corolle divisée en une lèvre supérieure et inférieure **(Quézel et Santa, 1963).** De nos jours, les deux noms sont généralement acceptés, même si «Lamiaceae» est considéré comme plus correct.

1.4 Systématique des Lamiaceae

Selon la classification APG IV (2016), la famille fait partie de l'embranchement des Embryophytes, sous embranchement des Trachéophytes, superclasse des Spermaphytes, classe des Angiospermes ,clade des Astéridées, sous clade des Lamiidées et l'ordre des Lamiales **(Dupont et Guignard, 2012).**

1.4.1 Répartition géographique

La répartition de cette famille est extrêmement étendue avec une prédominance pour les régions méditerranéennes (Figure 1).

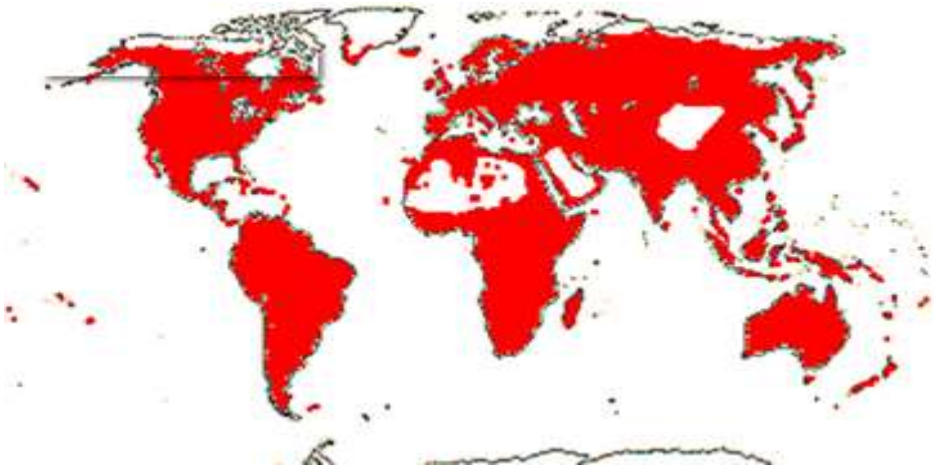


Figure 1: Distribution mondiale des Lamiaceae **(Stevens, 2001)**

1.4.2 Appareil végétatif et anatomie

Ce sont des plantes à tiges souvent quadrangulaire. Les feuilles sont simples et toujours opposées. Ce sont des plantes aromatiques à huiles essentielles **(Dupont et Guignard, 2012).**

La famille des Lamiaceae est caractérisée par la présence de :

- Poils sécréteurs dont la tête est formée d'un, deux, quatre, huit ou seize cellules (Le plus souvent huit cellules). Chez les Lamiaceae, les deux faces des feuilles, les calices et les jeunes tiges sont recouverts de trichomes glandulaires formant ce qu'on appelle un indumentum à leur surface **(Atalay et al., 2016)**
- Poils tecteurs rarement unicellulaires, le plus souvent unisérié.

1.4.3 Appareil reproducteur

L'inflorescence : fleurs regroupées en glomérules.

La fleur : hermaphrodite, souvent pentamère, zygomorphe à corolle gamopétale bilabiée (Cinq pétales soudés, formant un tube à la base et deux lèvres au sommet : une lèvre est formé de deux pétales supérieurs et l'autre de trois pétales inferieurs). L'androcée est didyname.
Le gynécée est formé de deux carpelles soudés avec fausse cloison et style gynobasique.
Le fruit est un tétrakéne **(Quézel et Santa, 1963, Ozenda, 2004, Dupont et Guignard, 2012).**

1.5 Genre Phlomis

1.5.1 Distribution

Le genre *Phlomis* comprend plus de 100 espèces, principalement réparties dans la région méditerranéenne, en Asie centrale et en Chine **(Limem-Ben Amor et al., 2009)**. Trente-quatre espèces poussent en Turquie **(Huber-Morath, 1982)**, dix en Jordanie (Bader et al., 2015), dix-sept en Iran **(Sarkhail et al., 2014)**.

L'Afrique du Nord compte huit (8) espéces (*P. antiatlantica* J.P. Peltier, *P. floccosa* D. Don, *P. bovei* de Noé, *P. caballeroi* Pau, *P. crinita* Cav., *P. herba-venti* L., *P. nepetifolia* L., *P. urticifolia* Vahl) **(Dobignard et Chatelain, 2012).** Quatre (4) espèces poussent dans le nord de l'Algérie : *P. bovei* de Noé, *P. herba-venti* L., *P.caballeroi* Pau et *P. crinita* Cav. **(Quézel et Santa, 1963, Govaerts, 2003).** Il est aujourd'hui admis que *Phlomis bovei* de Noé (synonyme de *Phlomis samia* Desf ou *Phlomis samia* subsp. *bovei* (De Noé) Maire) comporte 2 sous-espèces :

- *Phlomis bovei* subsp. *bovei* qui est une endémique Algéro-Tunisienne.
- *Phlomis bovei* subsp. *maroccana* Maire dont la distribution est marocaine.

1.5.2 Usage en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle algérienne, les espèces du genre *Phlomis* sont principalement utilisées pour traiter les plaies et les ulcères gastriques. En médecine traditionnelle anatolienne, elles sont utilisées comme toniques, diurétiques et pour le traitement des ulcères et des hémorroïdes **(Calis et Kirmizibekmez, 2004).** En médecine traditionnelle asiatique, certaines espèces sont utilisées en tant que roborant, pour traiter la tuberculose, les pathologies pulmonaires et cardio-vasculaires, la polyarthrite rhumatoïde **(Calis et al., 2005b),** les inflammations, les plaies et les douleurs **(Tanaka et al., 1983, Zhang et al., 1991)**

En médecine traditionnelle iranienne, elles sont utilisées comme stimulantes, toniques, pour soulager les douleurs, pour traiter les infections des voies respiratoires, le diabète et les plaies **(Delazar et al., 2008, Nazemiyeh et al., 2008)**. En Espagne, leurs parties fleuries sont

utilisées pour préparer une tisane à des fins médicinales afin de soulager les rhumes et les troubles gastro-intestinaux **(Limem-Ben Amor et al., 2009, Lopez et al., 2010)**

Chapitre 2 : Travaux phytochimiques et biologiques antérieurs

Les espèces du genre *Phlomis* contiennent des composés appartenant à des classes phytochimiques variées, dont les iridoïdes **(Olennikov et Chirikova, 2017, Li et al., 2017a)**, les phénylléthanoïdes **(Kırmızıbekmez et al., 2004, Le et al., 2019)**, les lignanes **(Kırmızıbekmez et al., 2004)**, les néolignanes **(Ersöz et al., 2002)**, les mégastigmanes **(Takeda et al., 2002)**, les monoterpènes glycosides **(Saracoglu et al., 2003)**, diterpène glycosyl ester **(Yalçın Funda et al., 2006)**, les nortriterpènes **(Limem-Ben Amor et al., 2009)**, et les flavonoïdes **(Kabouche et al., 2005, Bader et al., 2015)**.

2.1 Les iridoides

2.1.1 Définition

Les iridoïdes sont des composés monoterpéniques hautement oxygénés caractérisés par un squelette cyclopentapyranique nommé iridane (Figure 2), le 4,8-diméthyl-cis-2-oxabicyclo- [4.3.0] –nonane 2. Les travaux novateurs sur les structures de cette classe de composés ont débuté après l'isolement de l'iridodial, de l'iridomyrmécine et de l'isoiridomyrmécine (iridolactone) à partir *Iridomyrmex*, un genre de fourmis que l'on trouve principalement en Australie **(Bruneton, 2016)**. Plus tard, l'iridodial a été isolé d'une plante australienne du genre, *Myoporum* (Scrophulariaceae).

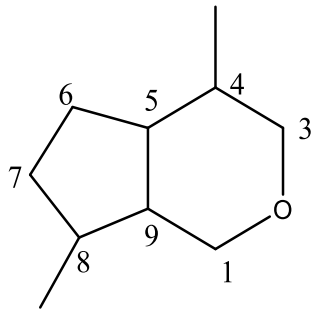


Figure 2: Structure du noyau de base iridane.

Sur la base de ces informations, le nom de cette classe de composés a été adapté en «iridoïdes» en raison de leur similarité structurale avec l'iridodial, qui, sur acylation intramoléculaire, donne la structure du squelette pyrane de l'iridoide (Figure 3). L'application d'iridoïdes, d'iridodial et de dolichodial dans le mécanisme de défense des fourmis des genres, *Iridomyrmex, Dolichoderus et Tapinoma* a suscité l'intérêt pour la recherche des plantes à iridoïdes.

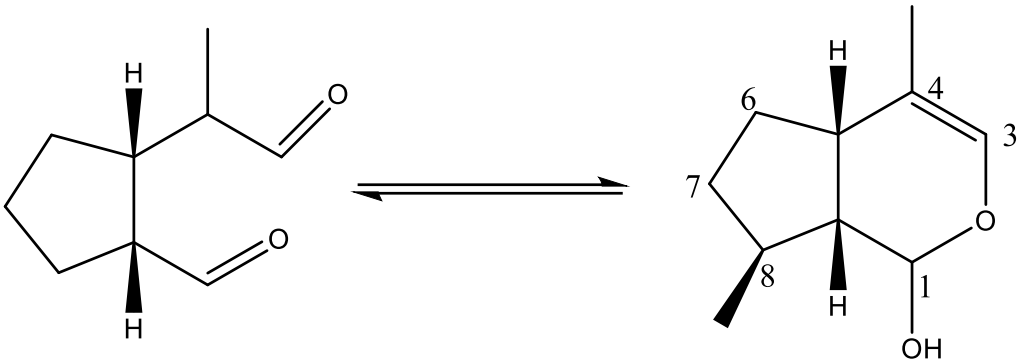


Figure 3: Structure d'un iridodial en équilibre avec sa forme lactone.

Plusieurs insectes des ordres Coléoptères, Lépidoptères, Hyménoptères et Hémiptères ingèrent des plantes contenant des iridoïdes, les stockent puis les utilisent comme moyen de défense contre leurs prédateurs ou pour augmenter leur comportement de reproduction.

2.1.2 Distribution

Les iridoïdes sont des métabolites secondaires largement répandus chez les Angiospermes et chez certaines espèces de fourmis. Dans de nombreuses plantes, ils existent sous forme de secoiridoïdes **(Lacaille-Dubois et al., 1996),** qui sont formés par le clivage du cycle cyclopentane de la liaison C7- C8.

Ces composés se retrouvent principalement dans vingt-deux ordres appartenant aux Dicotylédones et aux Monocotylédones. Chez les eudicotylédones, ils sont contenus dans le clade des Asteridées, et des Rosidées. Chez les Monocotylédones, ils sont rapportés dans l'ordre des Poales (Cyperaceae).

2.1.3 Structure des iridoides

2.1.3.1 Structure de la génine

Les iridoïdes sont classés en cinq groupes (Figure 4) :

2.1.3.1.1 Glycosides iridoïdes

- Iridoïdes glycosides avec squelette basique à 8 carbones : unedoside
- Iridoïdes glycosides avec squelette basique à 9 carbones
  - Iridoïdes glycosides avec squelette basique à 9 carbones en C4 : deutzioside
  - Iridoïdes glycosides avec squelette basique à 9 carbones en C8 : aucubin
- Iridoïdes avec squelette basique à 10 carbones
  - Simples glycosides iridoïdes avec squelette basique à 10 carbones : ixoroside
  - Glycosides iridoïdes de type *Valeriana* avec squelette basique à 10 carbones : valerosidate
- Glycosides iridoïdes de type *Plumeria* avec squelette basique à 14 carbones : plumieride

- Glycosides iridoïdes conjugués à l'alcaloïde **:** daphcalycinosidine A

2.1.3.1.2 Iridoïdes aglycones ou iridoïdes non glycosidiques

- Les simples iridoïdes aglycones et leurs dérivés : neomatatabiol
- Iridoïdes aglycones réarrangés : viburtinal
- Iridoïdes aglycones de type *Valeriana* (Caprifoliaceae) : valtrate
- Iridoïdes aglycones de type *Plumeria* (Apocynaceae) : plumericin

2.1.3.1.3 Glycosides secoiridoïdes

- Simples secoiridoïdes glycosides : secologanin
- Glycosides secoiridoïdes conjugués aux terpènes : foliamenthin
- Glycosides secoiridoïdes conjugués phénoliques : amarogentin
- Glycosides secoiridoïdes conjugués aux alcaloïdes : ionijaposide B

2.1.3.1.4 Secoiridoïdes aglycones : floribundane

2.1.3.1.5 Glycosides di et trimériques et les glycosides secoiridoïdes : pulosarioside

2.1.3.2 Structure des sucres

La plus souvent, un glucose est fixé en C-1 ou en C-4 de l'aglycone.

2.1.4 Iridoïdes de la famille des Lamiaceae

Les iridoides isolés des Lamiaceae appartiennent principalement à deux groupes. Le premier a un squelette à 9 atomes de carbone, tandis que le second à un squelette à 10 atomes de carbones (Figure 5). Des secoiridoïdes ont également été observés chez *Lamium album* L.

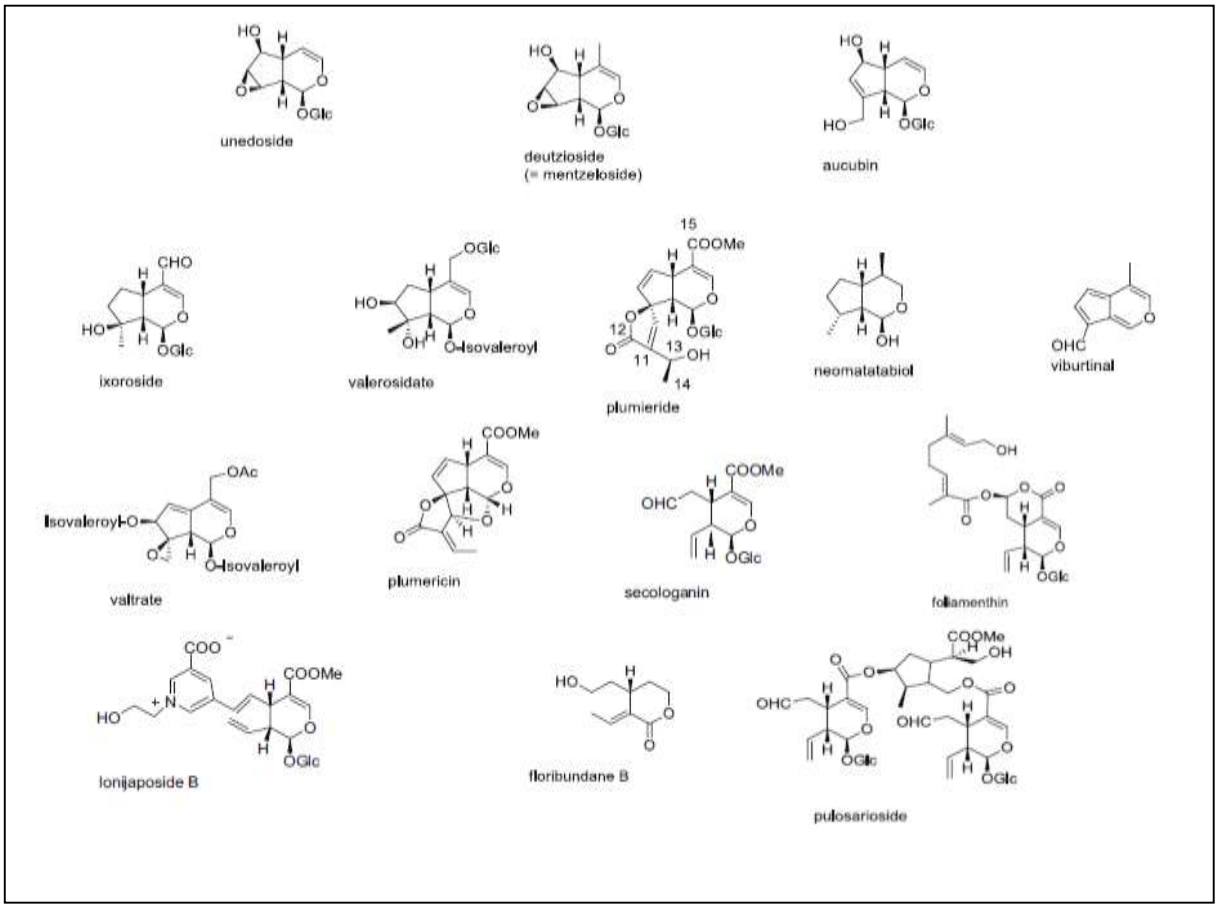


Figure 4 : Structures chimiques de quelques iridoides **(Dinda, 2019)**

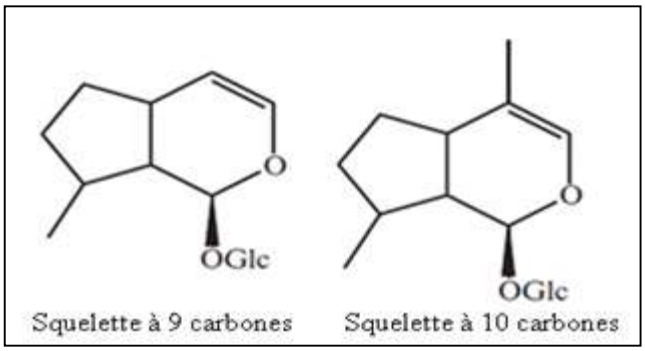


Figure 5: Les iridoides retrouvés chez les Lamiaceae

2.1.5 Iridoïdes isolés du genre *Phlomis*

Les principaux iridoides isolés du genre *Phlomis* sont mentionnés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Principaux iridoides retrouvés dans le genre *Phlomis*

Composé isolé	**Espèce**	**Références**
8-O-Acetylshanzhiside	*P. tuberosa* L.	**(Ersöz et al., 2001)**
8-O-Acetylshanzhiside méthyle ester	*P. spinidens* Nevski *P. medicinalis* Diels *P. rigida* Labill. *P. umbrosa* Turcz. *P. younghusbandii* Mukerjee	**(Takeda et al., 2001)** **(Yu et al., 2006)** **(Takeda et al., 2000)** **(Liu et al., 2007)** **(Gao et al., 2007)**
8-Acetylshanzhigenine methyl ester et le 8-acetyl-1-epishanzhigenin méthyle ester	*P.umbrosa* Turcz.	**(Guo et al., 2001)**
6-O-Acetyl-shanzhiside méthyle ester	*P. medicinalis* Diels	**(Yu et al., 2006)**
Auroside	*P. linearis* Boiss. & Balansa *P. aurea* Decne. P. angustissima Hub.-Mor.	**(Calis et al., 1990)** **(Aboutabl et al., 2002)** **(Yalcin, 2005)**
Barlerin 141	*P. rotata* ex Hook.f.	**(Zhang et al., 1991)**
Dehydropentstemoside	*P. rotata* ex Hook.f. *P. medicinalis* Diels	**(Zhang et al., 1991)** **(Yu et al., 2006)**
Deoxypulcheloside I	*P. rigida* Labill.	**(Takeda et al., 2000)**
5-Desoxysesamoside	*P. tuberosa* L.	**(Alipieva et al., 2000)** **(Calis et al., 2005b)**
3-Epiphlomurin	*P. aurea* Decne.	**(Kamel et al., 2000)**
8-Epiloganin	*P. grandiflora* var. *grandiflora* *P. aurea* Decne.	**(Takeda et al., 1999)** **(Aboutabl et al., 2002)**
6-hydroxyipolamide	*P. rigida* Labill.	**(Takeda et al., 2000)**
Ipolamiide	*P. linearis* Boiss. & Balansa *P. armeniaca* Willd. *P. aurea* Decne. *P. brunneogaleata* Hub.-Mor.	**(Calis et al., 1990)** **(Saracoglu et al., 1995)** **(Kamel et al., 2000)** **(Kirmizibekmez et al., 2004)**
Lamiide	*P. linearis* Boiss. & Balansa *P. aurea* Decne. *P. herba-ventis ssp. pungens* *P. pungens var. pungens* *P. physocalyx* Hub.-Mor. *P. angustissima* Hub.-Mor.	**(Calis et al., 1990)** **(Kamel et al., 2000)** **(Aboutabl et al., 2002)** **(Alipieva et al., 2000)** **(Ismailoglu et al., 2002)** **(Ersoz et al., 2003)** **(Yalcin, 2005)**
Lamiridoside	*P. rigida* Labill. *P. spinidens* Nevski	**(Takeda et al., 2000)** **(Takeda et al., 2001)**
Penstemoside	*P. younghusbandii* Mukerjee	**(Kasai et al., 1994)**
Phlomiol	*P. longifolia* var. *longifolia* *P. younghusbandii* Mukerjee	**(Ersoz et al., 2001)** **(Gao et al., 2007)**
Phlomiside (gentiobioside)	*P. aurea* Decne.	**(Aboutabl et al., 2002)**
Phlomurine	*P. aurea* Decne.	**(Kamel et al., 2000)**
Phlorigidoside A (2-O-acetyllamiridoside)	*P. rigida* Labill.	**(Takeda et al., 2000)**
Phloyosides I (7-epiphlomiol)	*P. rotata* ex Hook.f. *P. younghusbandii* Mukerjee *P. mongolica* Turcz. *P. tuberose* L. *P. medicinalis* Diels *P. umbrosa* Turcz.	**(Zhang et al., 1991)** **(Kasai et al., 1994)** **(Li, 2000)** **(Calis et al., 2005b)** **(Yu et al., 2006)** **(Liu et al., 2007)**
Phloyosides II	*P. mongolica* Turcz.	**(Li, 2000)**
Pulchelloside-I	*P. younghusbandii* Mukerjee	**(Gao et al., 2007)**
Sesamoside	*P. tuberosa* L. *P. younghusbandii* Mukerjee *P. medicinalis* Diels	**(Alipieva et al., 2000)** **(Gao et al., 2007)** **(Yu et al., 2006)**

2.1.6 Activités biologiques

Les iridoïdes sont présents dans un certain nombre de plantes médicinales traditionnelles utilisées en médecine populaire pour le traitement de diverses maladies.
En 1999, il a été rapporté que l'intérêt des iridoïdes était plutôt limité et les plantes qui en contiennent ne fournissaient pas de principes actifs majeurs **(Bruneton, 1999).** Actuellement, environ 3 000 iridoïdes dérivés de plantes ont été isolés et ces composés présentent un large éventail d'activités pharmacologiques ce qui démontre l'évolution dans la recherche des iridoides.

Plusieurs iridoïdes et alcaloïdes indolés d'origine secoiridoïdes, tels que la vincristine et la vinblastine, sont utilisés en médecine moderne pour le traitement des troubles inflammatoires, notamment des tumeurs.

2.1.6.1 Activité cicatrisante

La décoction des racines et des feuilles de *Buddleja scordioides* Kunth, Scrophulariaceae est traditionnellement utilisée dans de nombreux pays pour le traitement de l'ulcère et des plaies. Le *catalpol* et le *méthylcatalpol* sont deux iridoides isolés de cette plante. Ces composés ont montré une activité protectrice contre la perméabilité vasculaire cutanée accrue (à l'histamine) chez le lapin. L'effet protecteur a été mesuré par la réduction des fuites d'Evans blue. Les résultats ont montré que les iridoïdes produisaient une inhibition significative de la perméabilité microvasculaire. Une comparaison a été faite entre l'action des iridoïdes et un inhibiteur connu de la perméabilité vasculaire, la troxérutine. Le méthylcatalpol et le catalpol se sont avérés moins efficaces que la troxérutine. Ainsi, ces iridoïdes pourraient être utiles dans le traitement des plaies au stade d'angiogénése de la plaie pour empêcher la suppuration causée par les dommages oxydatifs et pour augmenter le dépôt de collagène en améliorant la fonction capillaire par la réduction des fuites anormales **(Gutierrez et al., 2006)**.

Les catalpols acylés, le *scropolioside* A, le *scrovalentinoside* isolés de graines de *Scrophularia nodosa* L. ont montré une activité cicatrisante en stimulant la croissance des fibroblastes humains **(Stevenson et al., 2002)**.

Aucubin, un glucoside iridoide commun isolé de plusieurs plantes, administré par voie topique (solution à 0,1%) de part et d'autre de la muqueuse buccale de souris pendant trois (3) jours, a montré un effet cicatrisant important en favorisant une réépithélialisation précoce et la formation de la matrice de collagène par rapport à groupe de contrôle **(Shim et al., 2007).**

Le sweroside et le swertiamarin, isolés de *Gentiana lutea* L., ont montré une activité cicatrisante significative chez les fibroblastes embryonnaires de poulet par stimulation de la

production de collagène. Leurs activités étaient comparables à celles du dexpanthénol, un médicament cicatrisant des plaies cutanées **(Ozturk et al., 2006).**

2.1.6.2 Autres activités

- Activité antiinflammatoire et antinociceptive **(Kupeli et al., 2007)**
- Activité antiarthritique **(Andersen et al., 2004)**
- Activité hepatoprotectrice **(Verma et al., 2009)**
- Activité neuroprotectrice **(Tian et al., 2007)**
- Activité cardioprotectrice **(Andreadou et al., 2007)**
- Activité anticancer **(Pandeti et al., 2014)**
- Activité gastroprotectrice **(Jaiswal et al., 2014)**
- Activité antioxydante **(Niu et al., 2020)**
- Activité antibactérienne et antifungique **(Liu et al., 2017)**
- Activité antivirale **(Ornano et al., 2018)**
- Activité anti parasitaire : antimalariae, antileshmaniae, antitrypanosomale **(Suzuki et al., 2015)**
- Activité antidépressive **(Qu et al., 2014)**
- Activité anticonvulsivante **(Sotoing Taiwe et al., 2016)**
- Activité immunomodulatoire **(Ghule et Yeole, 2012)**
- Activité antispasmodique, anxiolytique, nematocidale et insertidale **(Dinda, 2019).**

2.2 Phényléthanoïdes

2.2.1 Distribution

Les glycosides phényléthanoïdes (PhG) constituent une classe de composés hydrosolubles largement répandus dans les plantes. Ils sont présents dans les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines sans sélectivité pour les organes **(Kirmizibekmez et al., 2012).** La majorité de ces composés rapportés à ce jour se retrouvent dans les familles Scrophulariaceae, Oleaceae, Plantaginaceae, Lamiaceae et Orobanchaceae **(Nazemiyeh et al., 2006)**.

2.2.2 Structure des phényléthanoïdes

2.2.2.1 Structure de la génine

Comme leur nom l'indique, les PhG sont caractérisées par un alcool phénéthylique (C6-C2) lié à un β-glucopyranose ou un β-allopyranose via une liaison glycosidique (Figure 6). Depuis 2008, plus de 100 PhG ont été isolés. Certaines nouvelles molécules sont différentes par leurs structures centrales, alors que d'autres par le nombre et / ou la position des substituants **(Fu et al., 2008).**

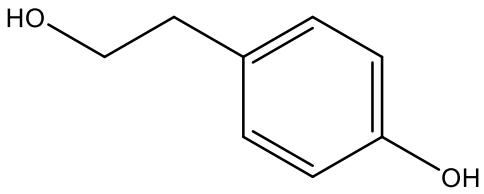


Figure 6: Tyrosol, simple PhG.

2.2.2.2 Les acides

Les acides aromatiques les plus fréquents fixés avec une liaison ester au glucose ou parfois à l'allose sont les acides caféique, férulique, coumarique, cinnamique, vanillique et syringique. Certaines PhG sont également appelées glycosides phénylpropanoïdes en raison de la présence d'un ou de plusieurs phénylpropyle apportés par ces acides aromatiques (Figure 7).

2.2.2.3 Les sucres

Les nouveaux PhG isolés sont souvent liés à des glucopyranosides avec une liaison glycosidique, et rarement à des allopyranosides, qui sont principalement isolés de *Magnolia officinalis* Rehder & E.H.Wilson. En règle générale, les saccharides les plus fréquents sont le glucose, le galactose, le xylose, l'apiose, l'arabinose et le rhamnose (Figure 8), et rarement le lyxose (*Teucrium chamaedrys* L.) **(Pacifico et al., 2009).**

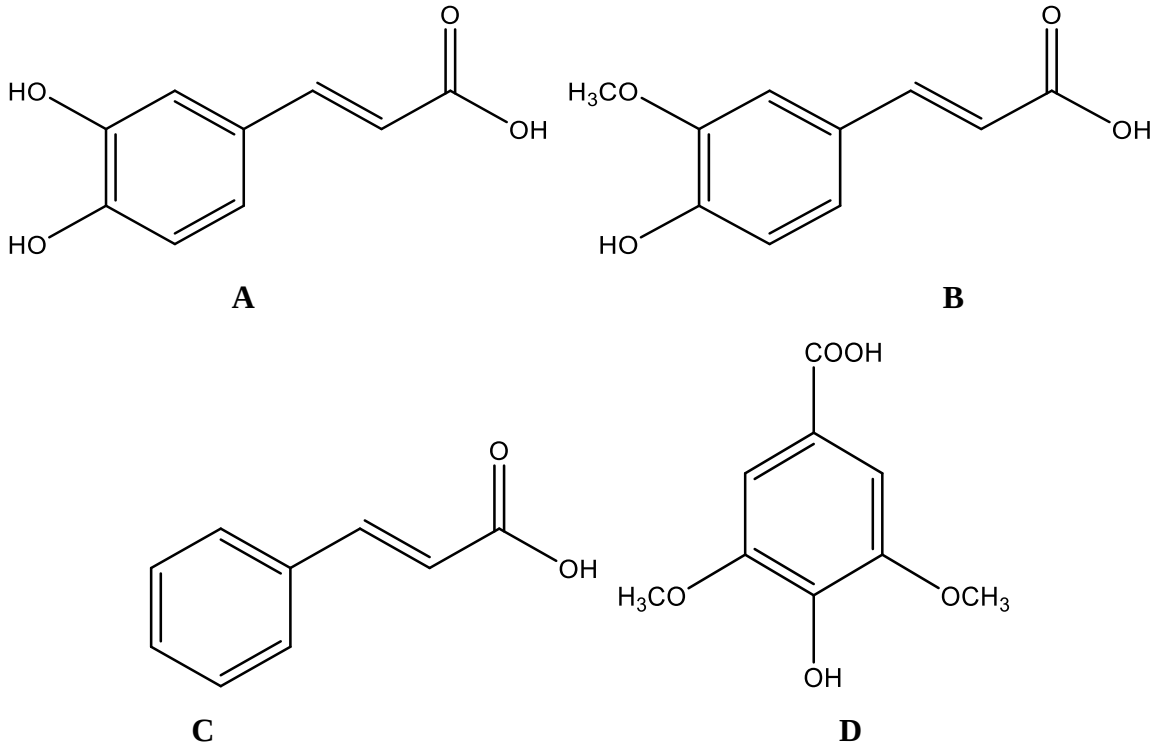


Figure 7: Structure des acides aromatiques
A : acide caféique, **B** : acide férulique, **C** : acide cinnamique, **D** : acide syringique

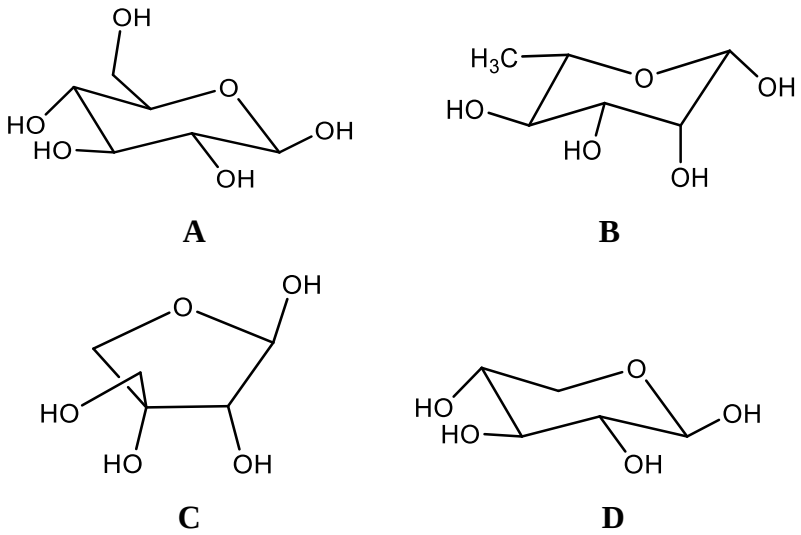


Figure 8 : Principaux sucres rencontrés dans les PhG.
A : D-glucopyranose, B : L- rhamnopyranose, C: D-apiofuranose, D: D-xylopyranose

2.2.3 Phenylethanoides de la famille des Lamiaceae

Le verbascoside représente le composé principal chez les espèces de Lamiaceae. Néanmoins, même ses dérivés ont été retrouvés chez les Lamiaceae. Certains d'entre eux sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques du genre et de l'espèce.

2.2.4 Phenylethanoides du genre *Phlomis*

Les phényléthanoïdes isolés du genre *Phlomis* sont mentionnés dans le tableau 2. La liste n'est pas exhaustive.

Tableau 2 : Principaux phényléthanoïdes retrouvés dans le genre *Phlomis*

Composé	**Espéce**	**Références**
Cistanoside B	*P. mongolica* Turcz.	**(Li et al., 2000)**
Decaffeoylacteoside	*P. tuberosa* L. *P. umbrosa* Turcz.	**(Calis et al., 2005b)** **(Liu et al., 2007)**
Dimethylether myricoside	*P. oppositiflora* Boiss. & Hausskn.	**(Calis et al., 2005b)**
Echinacoside	*P. brunneogaleata* Hub.-Mor.	**(Kirmizibekmez et al., 2004)**
Isoverbascoside	*P. brunneogaleata* Hub.-Mor.	**(Kirmizibekmez et al., 2004)**
Phlomisethanoside	*P. grandifora var. grandiflora*	**(Takeda et al., 1999)**
Leucosceptoside A	*P. armeniaca* Willd. *P. longifolia* var. *longifolia* *P. tuberosa* L.	**(Saracoglu et al., 1995)** **(Ersoz et al., 2001)** **(Calis et al., 2005b)**
Martynoside	*P. physocalyx* Hub.-Mor.	**(Ersoz et al., 2003)**
Myricoside	*P. oppositiflora* Boiss. & Hausskn.	**(Calis et al., 2005b)**
Samioside	*P. angustissima* Hub.-Mor.	**(Yalcin, 2005)**

2.2.5 Activités biologiques

La diversité structurale des PhG et les propriétés biologiques qui en résultent, notamment les propriétés anticancéreuses **(Wang et al., 2019)**, neuroprotectrices **(He et al., 2011, Shao et al., 2017)**, anti-inflammatoires **(Nan et al., 2013)**, antioxydantes **(Georgiev et al., 2011)** , amélioration de la mémoire, antibactériennes **(Kim et al., 2015)**, antivirales **(Hu et al., 2016**), cytotoxiques **(Kutluay et al., 2019)**, immunomodulateurs **(Song et al., 2012)** sont intéréssentes pour ceux qui participent à la recherche de nouvelles molécules.

2.3 Mégastigmanes

2.3.1 Définition

Ce sont des composés terpéniques, plus exactement des norsesquiterpénes.

Les mégastigmanes ou les isonorterpénoïdes appartiennent à la classe des terpènes. Les composés sont apparentés aux sesquiterpénoïdes, mais en raison du squelette en C13, ils sont également appelés les norterpénoïdes.

2.3.2 Distribution

La plupart des mégastigmanes ont été isolés à partir de plantes telles que *Cucumis sativus* L., *Crotalaria zanzibarica* Benth., *Staphylea bumalda* DC., *Juniperus communi* L. et *Excoecaria cochinchinensis* Lour...

2.3.3 Structure des mégastigmanes

2.3.3.1 Structure de la génine

Le noyau de base est constitué d'un cycle à six carbones avec une double liaison $\Delta^4 5$ (Figure 9). Un méthyle est fixé en position C-5, et un diméthyle en position C-1. De plus, une chaîne à quatre carbones est attachée en position C-6 avec une double liaison $\Delta^7 8$ en mode trans. En outre, un groupe hydroxyle est souvent présent au voisinage de la double liaison de la chaîne latérale **(Takeda et al., 2004).**

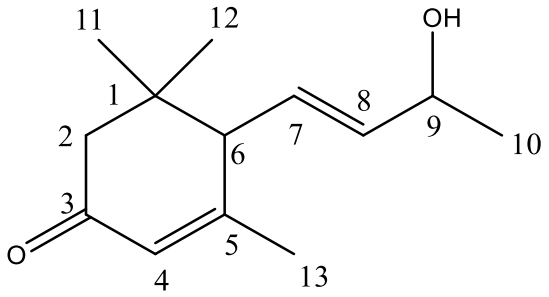


Figure 9: Squelettes de base des mégastigmane

2.3.3.2 Structure des sucres

Le sucre qui se fixe sur la partie aglycone est le plus souvent un glucose lié en C-9.

2.3.4 Mégastigmanes du genre *Phlomis*

Un certain nombre de mégastigmanes glycosides ont été isolés à partir des espèces du genre *Phlomis.* Les mégastigmanes les plus fréquents figurent dans le tableau 3.

Tableau 3: Principaux mégastigmanes retrouvés dans le genre *Phlomis*

Composé	Espéce	Réferences
Citroside	*P. grandiflora* var. *grandiflora* *P. spinidens* Nevski	**(Takeda et al., 1999)** **(Takeda et al., 2001)**
Phlomuroside	*P. aurea* Decne. *P. lunariifolia* Sm.	**(Kamel et al., 2000)** **(Calis et Kirmizibekmez, 2004)**

2.3.5 Activités biologiques

Les mégastigmanes sont dotés de plusieurs activités, nous citons :

- Activité antiinflammatoire : Il a été rapporté que deux mégastigmanes isolés de fruit de *Docynia indica* (Wall.) Decne. présentent un effet inhibiteur remarquable sur la production de l'oxyde nitrique (NO) dans les cellules microgliales BV2 stimulées par le lipopolysaccharide (LPS) **(Dung et al., 2016, Zhou et al., 2019).**
- Activité hépatoprotectrice : Lors d'une étude réalisée en 2007, la fraction methanolique de la plante entière de *Sedum sarmentosum* Bunge, Crassulaceae, s'est révélée présenter un effet hépatoprotecteur sur la cytotoxicité des hépatocytes de souris induite par la D-galactosamine. A partir de cette fraction active, cinq nouveaux mégastigmanes ont été isolés **(Ninomiya et al., 2007).**
- Activité antibactérienne: Bao et collaborateurs en 2017, ont demontré que le Plantaginoside, un mégastigmane glycoside isolé de fleurs de *Hosta plantaginea* (Lam.) Asch. inhibe la croissance de *Bacillus cereus*, et *Yersinia enterocolitica* **(Bao et al., 2017).**
- Activité antioxydante contre le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) **(Bao et al., 2017).**

2.4 Lignanes

2.4.1 Définition

Les lignanes sont une classe de métabolites secondaires produits par la dimérisation oxydative de deux unités phénylpropanoïdes. Le terme lignane s'applique aux dimères optiquement actifs de phénylpropanoïdes liés par les atomes de carbones centraux- C de leurs chaînes latérales, tandis que le terme « néolignane » désigne les dimères de deux phénylpropanoïdes qui ne sont pas reliés par la liaison entre les atomes de carbone centraux (C8-C8′) des chaînes latérales **(Willför et al., 2006).**

Les lignanes sont principalement présents dans la nature sous forme libre, alors que leurs dérivés glycosidiques ne créent qu'une forme mineure.

2.4.2 Distribution :

Ils sont largement répandus dans le règne végétal et ont été trouvés chez des espèces appartenant à plus de soixante-dix (70) familles. Ces composés sont présents dans diverses espèces du règne végétal, notamment chez les Ptéridophytes, les Gymnospermes et les Angiospermes **(Zhang et al., 2014).** Chez les Angiospermes, des lignanes ont été isolés de plantes appartenant à l'ordre des Asterales, Scropholariales, Lamiales, Solanales, Apiales, Sapindales, Aristolochiales, Piperales, Laurales, Malvales, Malpighiales et Magnoliales.

2.4.3 Structure des lignanes

2.4.3.1 Structure de la génine

Les lignanes et les néolignanes sont des structures dimériques formées par une liaison entre deux unités phénylpropanoïdes. Ces deux unités phénylpropanoïdes varient par le degré d'oxydation de leurs chaînes latérales (C7-C9) et par la substitution du cycle aromatique (C1-C6).

Les composés contenant deux monomères phénylpropanoïdes liés par une liaison entre les carbones C8 et C8′ sont appelés « lignanes ». Si cette liaison fait défaut et est remplacée par tout autre type de liaison, les composés sont appelés «néolignanes» (Figure 10).

Les sesquilignanes et sesquinéolignanes sont des composés contenant trois sous-unités de phénylpropanoïdes liées entre elles par des liaisons carbone-carbone ou carbone-oxygène. On appelle «norlignanes» tous les composés naturels qui co-apparaissent avec des lignanes ou des néolignanes et possèdent une structure centrale en C15, C16 ou C17. On pense généralement que de telles structures sont dérivées de dimères de phénylpropanoïdes par la perte d'un ou deux atomes de carbone, probablement par décarboxylation.

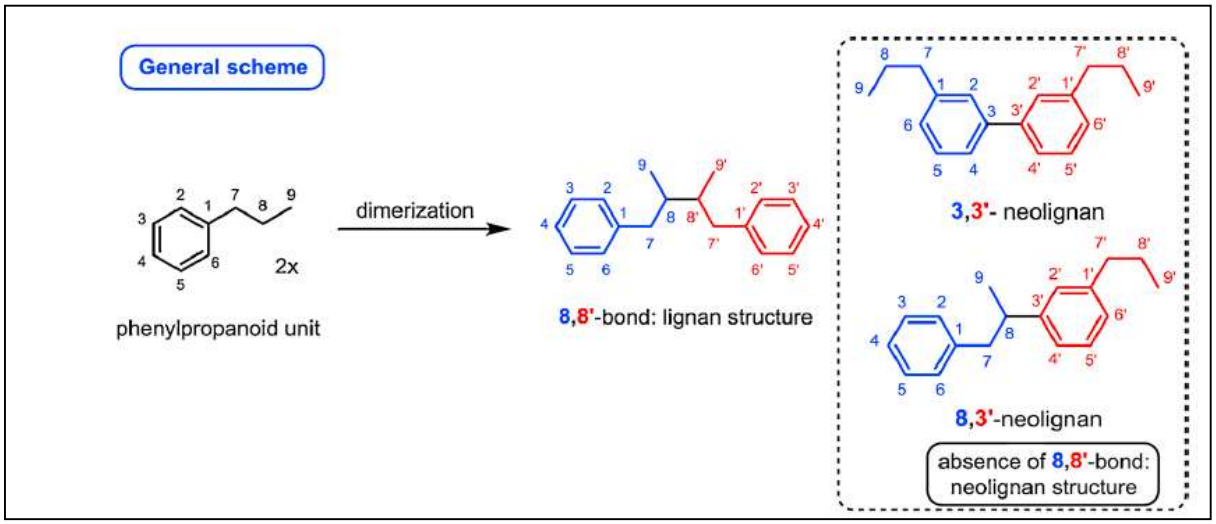


Figure 10 : Dimérisation des phénylpropanoides **(Zálešák et al., 2019).**

2.4.3.2 Structure des sucres

Le sucre le plus fréquemment rencontré est le D glucopyranose.

2.4.4 Lignanes de la famille des Lamiaceae

Plusieurs lignanes ont été isolés des Lamiaceae, les plus courants de cette famille sont les lignanes de type aryltétraline et de type résinol (Figure 11).

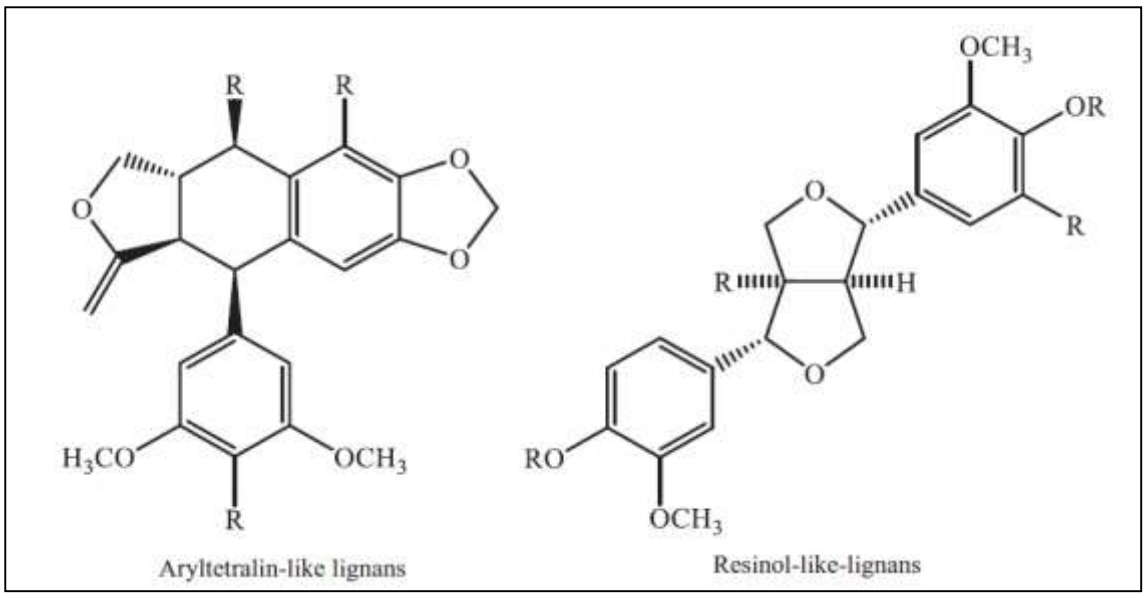


Figure 11 : Structures chimiques de base des lignanes retrouvées chez les Lamiaceae **(Frezza et al., 2019a).**

2.4.5 Lignanes du genre *Phlomis*

Un certain nombre de lignanes ont été isolés à partir des espèces du genre *Phlomis.* Les plus fréquents figurent dans le tableau 4.

Tableau 4: principaux lignanes retrouvés dans le genre Phlomis

Composé	**Espèce**	**Références**
Lariciresinol-4´-O-β-D-glucoside	*P.spinidens* Nevski	**(Takeda et al., 2001)**
Liriodendrine	*P.aurea* Decne. *P.brunneogaleata* Hub.-Mor.	**(Kamel et al., 2000)** **(Kirmizibekmez et al., 2004)**

2.4.6 Activités biologiques des lignanes

Les lignanes sont dotés de diverses bioactivités :

- Activité cytotoxique : La podophyllotoxine isolé de *Podophyllum peltatum* ou *P. hexandrum* (Berberidaceae) a le même mécanisme d'action que les alcaloïdes indoliques : la vinblastine et la vincristine ; elle inhibe la division cellulaire en se liant à la tubuline et en empêchant sa polymérisation. Ce lignane est utilisé comme traitement pour les verrues, mais il est trop toxique pour une application systémique. D'autres dérivés semi-synthétiques avec une toxicité moins importante sont prescrit en milieu hospitalier : l'étoposide, l'étopophos et le téniposide, Ces molécules inhibent la topoisomérase II (enzyme nécessaire à la réplication de l'ADN) **(Anne et al., 2009).**
- Activité antiinflammatoire : Des études ultérieures ont confirmé les propriétés anti-inflammatoires et anticancereuses de la sésamine, principal composé actif des graines de *Sesamum indicum* (Pedaliaceae), grâce à différents modèles *in vitro* et *in vivo* **(Majdalawieh et al., 2017).**
- Activité antibactérienne : six lignanes isolés des racines de *Streblus asper* Lour., Moraceae, ont exprimé une bonne activité contre le *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763), *Bacillus subtilis (*ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 11775) **(Nie et al., 2016).**
- Activité neuroprotectrice : les lignanes isolés de *Schisandra chinensis* (Schisandraceae) constituent des ressources prometteuses pour le développement de nouveaux principes actifs naturels efficaces pour leurs effets neuroprotectrices et cognitives **(Sowndhararajan et al., 2017).**
- Autres activités : antioxydante, antifungique **(Zálešák et al., 2019)**

2.5 Autres métabolites secondaires

2.5.1 Flavonoïdes

Quatre (4) principaux flavonoïdes ont été isolés chez les Lamiaceae, classés selon leurs structures de base : l'apigénine, l'hypolaétine, l'isoscutellareine et le scutellareine. Ces composés ont été isolés soit sous forme d'aglycones libres, soit sous leurs formes glycosylées liés à différents types de sucres, et à de nombreux radicaux (notamment les O-méthyléthers et les esters d'acétyle). Néanmoins, chez certaines espèces, un autre type de flavonoïdes a été rencontré, il s'agit des flavonols. Ce sont des composés assez rares chez les Lamiaceae. Ils ont été retrouvés en très petites quantités. Les principaux flavonoïdes isolés du genre *Phlomis* sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Flavonoïdes isolés du genre *Phlomis*

Composé	Espèce	Références
Apigenine	*P. lychnitis* L.	**(Tomás et al., 1986)**
Astragaline	*P. spinidens* Nevski	**(Takeda et al., 2001)**
Chryseriol	*P. lychnitis* L.	**(Tomás et al., 1986)**
Eriodictyol	*P. fruticosa* L.	**(Marin et al., 2007)**
Luteoline	*P. crinita* Cav.	**(Kabouche et al., 2005)**
Naringenine	*P. angustissima* Hub.-Mor.	**(Yalcin, 2005)**
Naringenine-7-glucoside	*P. aurea* Decne.	**(El-Negoumy et al., 1986)**
Vicenine-2	*P. fruticosa* L.	**(Marin et al., 2007)**

2.5.2 Huiles essentielles

L'huile essentielle de la famille des Lamiaceae est particulièrement riche en monoterpènes (l'α-pinène, le β-pinène, le 1,8-cinéole, le menthol, le limonène et le ϒ-terpinène), en sesquiterpènes (le germacène D, le caryophyllène et le spathulénol) et en diterpènes volatils (Figures 12, 13). Elle est également composée d'acides gras libres ou combinés sous forme de diglycérides et de triglycérides. De plus, leurs structures peuvent présenter des chaînes moyennes (C14 et C16) ou longues (C18) et même des instaurations (mono ou bi-insaturées) **(Frezza et al., 2019a).**

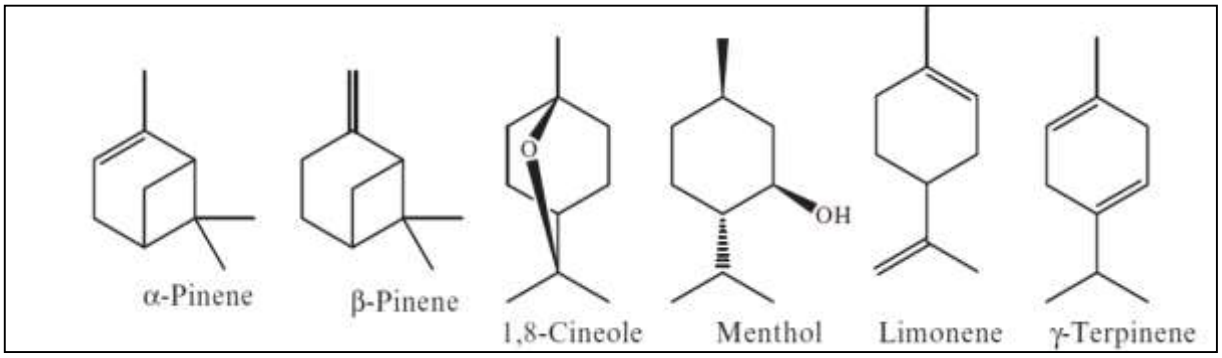


Figure 12 : Les principaux monoterpènes présents dans les huiles essentielles de Lamiaceae.

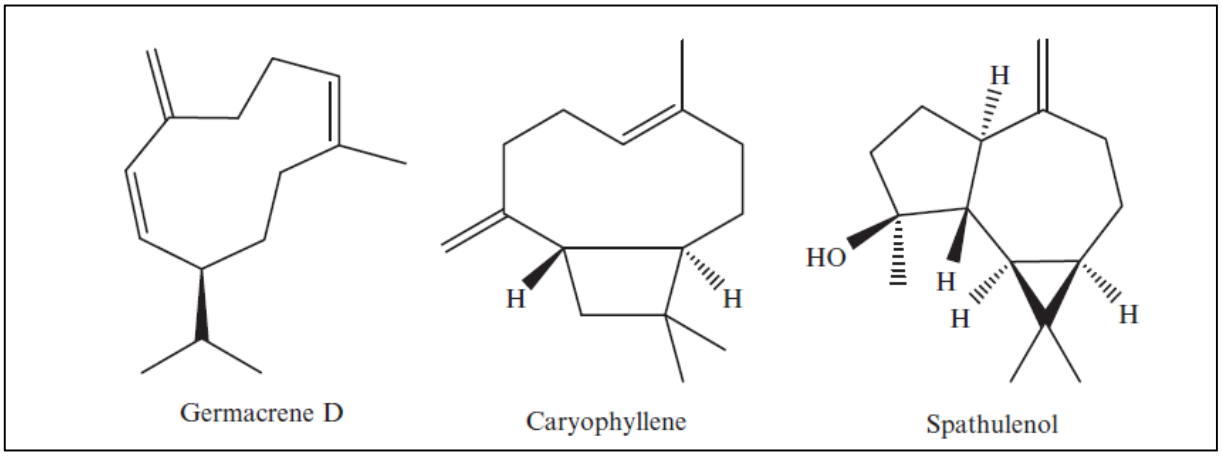


Figure 13 : Les principaux sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles de Lamiaceae.

De nombreux autres métabolites secondaires sont rencontrés dans le genre *Phlomis*, tels que l'acétophénone glycoside, l'acridone alcaloïde, l'alcool aliphatique glycoside, l'alcool benzylique glycoside, les esters de l'acide caféique, les diterpénoïde glycosyl ester, glycosides de type triterpène, glycosides phénoliques et dérivés de pyrrolidinium.

2.6 Travaux phytochimiques antérieurs de l'espèce *Phlomis bovei* de Noé

Des études phytochimiques antérieures sur *P.bovei* ont démontré la présence de trois composés dans les feuilles: l'apigénine, son -7-O-glucoside (apigétrine) et le 4- (4´-hydroxyphényl) -trans-but-3-en-2- one **(Zaabat et al., 2010)**. Liolios et al, 2007, isolent à partir de l'huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur d'eau de parties aériennes séchées soixante-quinze constituants. Les principaux sont : le germacène D, le β-caryophyllène, le β-bournonène, le thymol et l'hexahydrofarnésylacétone **(Liolios et al., 2007).**

2.7 Travaux biologiques antérieurs du genre Phlomis et de l'espèce *P.bovei* de Noé

Seule l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des parties aériennes du *P. bovei* a été évaluée **(Liolios et al., 2007).** Les activités des autres espèces du genre *Phlomis* figurent dans le tableau 6.

Tableau 6 : Activités biologiques du genre *Phlomis*

Activité	Espèce	Origine	Références
Antibactérienne	*P. crinita*	Tunisie	**(Amor et al., 2009)**
	P.crinita Cav. ssp. mauritanica Munby	Tunisie	**(Amor et al., 2008)**
	P. fruticosa L.	Montenegro,	**(Duletic et al., 2000)**
	P. herba-venti L.	Iran	**(Morteza-Semnani et al., 2004)**
	P. lanata	Gréce	**(Couladis et al., 2000)**
	P.olivieri	Iran	**(Bajalan et al., 2017)**
	P.russeliana *P. grandiflora*	Turquie	**(Demirci et al., 2008)**
Antidiabétique	*P. anisodonta*	Iran	**(Sarkhail et al., 2007)**
Antiinflammatoire	*P. purpureaL.* *P.lychnitis L.*	Espagne	**(Algieri et al., 2013)**
	P.younghusbandii	Chine	**(Li et al., 2015)**
Antioxydante	*P. crinita*	Tunisie	**(Amor et al., 2009)**
	P. crinita	Tunisie	**(Dellai et al., 2009)**
	P.likiangensis	Chine	**(Li et al., 2017b)**
	P. maximowiczii	Chine	**(Gu et al., 2014)**
Antiphytophtora	*P.purpurea*	Portugal	**(Mateus et al., 2016)**
Antinociceptive et antiinflammatoire	*P.umbrosa*	Chine	**(Shang et al., 2011)**
Antiulcéreuse	*P.crinita*	Tunisie	**(Amor et al., 2009)**
Effet vasodilatateur	*P.bracteosa*	Pakistan	**(Khan et al., 2012)**

Chapitre 3 : Rappel - Peau et cicatrisation

3.1 Définition

La peau, appelée aussi tégument (du latin tegumentum, couverture) est l'organe le plus lourd et le plus étendu du corps humain. Il pèse environ 4 Kg et représente une surface de 2 m^2. La peau est un organe complexe recouvrant le corps en entier et faisant continuité avec les muqueuses au niveau des orifices naturels **(Sharma et Yousef, 2017).**

Beaucoup plus qu'une simple enveloppe recouvrant notre corps, la peau est en effet le siège de nombreuses fonctions : sensorielle, d'échanges, de thermorégulation et de cicatrisation.

3.2 Histologie cutanée

La structure de la peau est complexe (Figure 14). Elle se subdivise en quatre (4) régions superposées qui sont de la superficie vers la profondeur :

- L'épiderme.
- La jonction dermo- épidermique.
- Le derme
- L'hypoderme

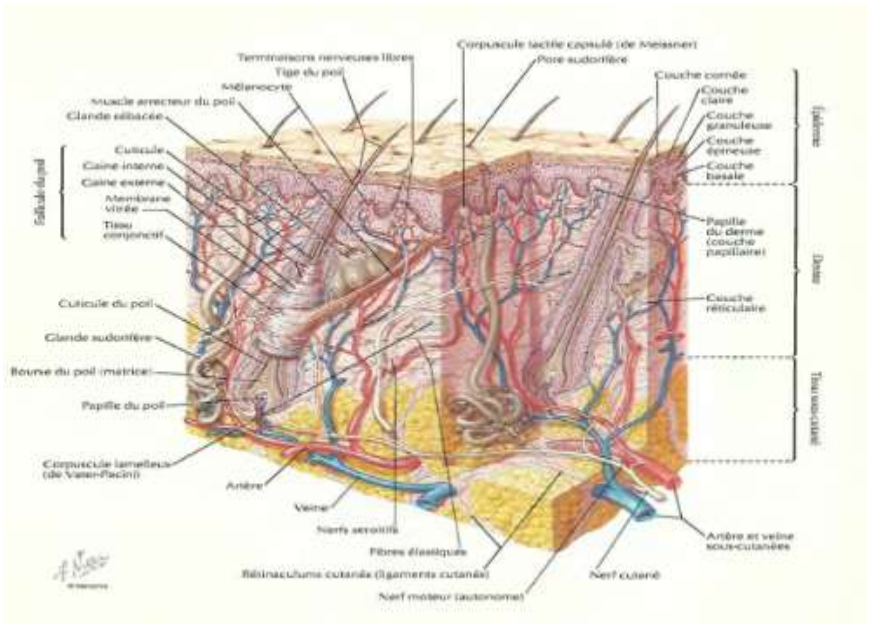


Figure 14 : Structure de la peau **(Netter.F.H, 2009).**

3.2.1 L'épiderme

Couche la plus superficielle de la peau, est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé. Il n'est pas vascularisé, mais innervé, il est constitué de quatre types cellulaires : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel. Il est séparé du derme par la membrane basale **(Mélissopoulos, 2012).**

3.2.1.1 Les kératinocytes :

Les kératinocytes (keras : corne ; kytos : cellule) sont les cellules les plus abondantes constituent 90% des cellules épidermiques. Elles naissent au niveau de la couche la plus profonde de l'épiderme (la couche basale), et migrent à la surface en se différenciant.

Ils produisent principalement de la kératine, qui imperméabilise et protège la peau et les tissus sous-jacents. Ils assurent également la cohésion de l'épiderme et sa protection contre les agressions mécaniques. Ce sont des cellules dynamiques qui se renouvellent en permanence, un kératinocytes migre de la profondeur vers la superficie de l'épiderme en 15 jours ; l'épiderme est entièrement renouvelé en six semaines **(Dréno, 2009).**

Ce processus dit de kératinisation permet de distinguer selon l'épaisseur de la peau quatre à cinq couches épidermiques qui sont de la profondeur vers la superficie (Figure 15) :

- La couche germinative ou basale (stratum germinativum)
- La couche épineuse ou spineuse (stratum spinosum)
- La couche granuleuse (stratum granulosum)
- La couche claire (stratum lucidum) : se rencontre dans la peau épaisse
- La couche cornée (stratum corneum)

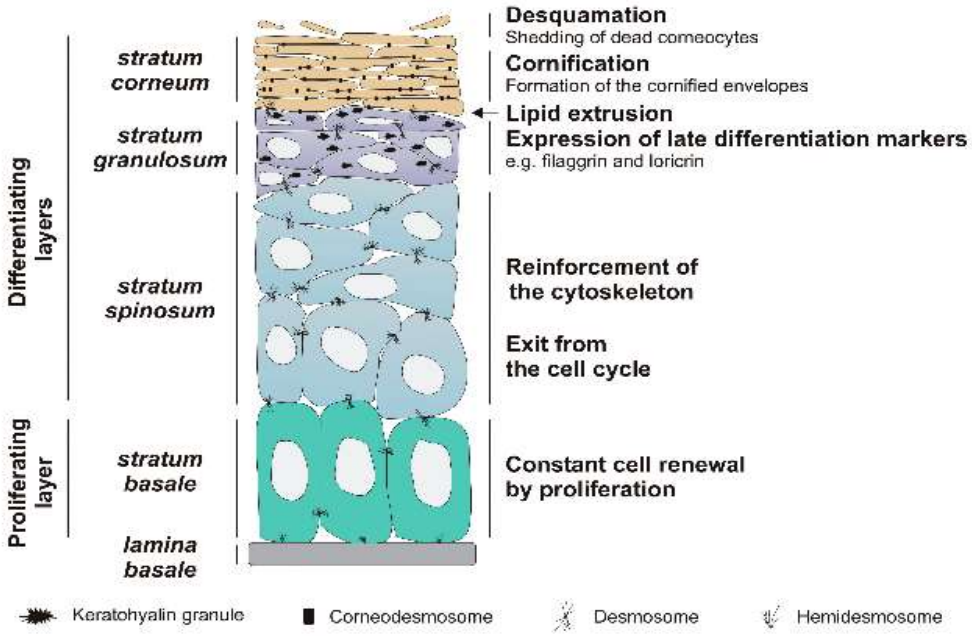


Figure 15 : Représentation schématique des principales étapes de la différenciation épidermique **(Denecker et al., 2008)**

3.2.1.2 Les mélanocytes :

Les mélanocytes (de mélas : « noir » et kutos : « cellule »), situés majoritairement dans la couche basale de l'épiderme. Ils constituent la deuxième grande population cellulaire

de l'épiderme (10 à 12%). Leur fonction principale se résume à la synthèse des mélanines dans des organites spécialisés « les mélanosomes » qui sont ensuite transférés aux kératinocytes. Ils sont donc responsables de la pigmentation de la peau, ce qui joue un rôle de protection vis à vis des rayons ultraviolets du soleil **(Dréno, 2009).**

3.2.1.3 Les cellules de Langerhans

Représentent 3 à 8% de la population cellulaire épidermique, Elles appartiennent au groupe des cellules dendritiques présentatrices d'antigènes. Leur fonction immunitaire repose sur leur implications qui vont bien au-delà de la peau, en raison de leurs propriétés de migration qui leur permettent d'informer les lymphocytes T **(Prost-Squarcioni et al., 2005).**

3.2.1.4 Les cellules de Merkel

Ce sont des cellules neuroépithéliales, ne constituent que 1 % des cellules épidermiques. Ce sont des mécanorécepteurs, et possèdent également des fonctions inductives et trophiques sur les terminaisons nerveuses périphériques et les annexes cutanées **(Prost-Squarcioni, 2006).**

3.2.2 La jonction dermo- épidermique

Elle joue un rôle essentiel dans la solidité mécanique entre le derme et l'épiderme, et assure la nutrition de ce dernier autorisant la diffusion des molécules nutritives simples à partir du derme. Il s'agit d'une membrane basale synthétisée par les kératinocytes épidermiques basaux et les fibroblastes dermiques **(Khavkin et Ellis, 2011).**

3.2.3 Le derme

Le derme est un tissu conjonctif dense, richement vascularisé et innervé. Il est principalement constitué d'une matrice extracellulaire (MEC), de collagène, d'élastine et de fibronectine, et peuplée de fibrocytes, de fibroblastes et de cellules du système immunitaire : lymphocytes, mastocytes, macrophages tissulaires (MAC). A ces cellules s'associent de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques, des nerfs, des terminaisons nerveuses sensitives libres et corpusculaires, du tissu musculaire lisse et strié, ainsi que diverses annexes cutanées dérivées de l'épiderme qui plongent en son sein.

Le derme peut être divisé en deux parties distinctes : le derme papillaire qui est un tissu lâche superficiel et le derme réticulaire, profond, formé d'un tissu conjonctif dense **(Dréno, 2009).**

3.2.4 L'hypoderme

Il est situé immédiatement sous le derme et forme un coussin de protection séparant la peau des membranes fibreuses entourant les organes plus profonds, muscles et os. C'est un tissu conjonctif lâche richement vascularisé qui contient selon les endroits plus ou moins de

tissu adipeux, reliant la peau aux structures sous-jacentes. L'hypoderme joue le rôle d'isolant thermique, d'accumulateur d'énergie et d'amortisseur des chocs.

3.2.5 Les annexes cutanées

Les annexes cutanées regroupent les glandes cutanées (les glandes sudoripares apocrine et eccrines et les glandes sébacées) et les phanères (poils et ongles). Elles sont toutes d'origine épidermique mais situées dans le derme et l'hypoderme.

3.3 Caractéristiques de la peau murine

Etant donné qu'une partie de cette étude porte sur l'évaluation de l'activité cicatrisante chez les rats Wistar, il importe de préciser quelques particularités de la peau murine par rapport à la peau humaine décrite précédemment.

De façon générale, la peau murine est plus souple et plus dense en follicules pileux que la peau humaine. Son épiderme est plus fin et constitué de moins de couches cellulaires (deux à trois couches de kératinocytes contre une dizaine pour l'homme), tout comme son derme (d'environ 100 µm contre plusieurs mm chez l'homme). La peau murine ne possède pas de glandes sudoripares apocrines ni de papilles dermiques **(Wong et al., 2011).**

3.4 La cicatrisation

La cicatrisation est l'ensemble des phénomènes physiologiques naturels aboutissant à partir d'une plaie à la restauration de la structure cutanée. Il s'agit d'un processus dynamique complexe qui comporte des séquences cellulaires et biochimiques intriquées, et harmonisées.

De cette manière les tissus humains et animaux sont capables de réparer des lésions localisées par des processus de réparation et de régénération qui leurs sont propres.

Ce phénomène inclue principalement quatre phases :

1-Une phase d'hémostase.

2-Une phase inflammatoire (ou détersivo-inflammatoire).

3-Une phase proliférative (dite aussi de granulation, de réparation ou de bourgeonnement).

4-Une phase de remodelage ou de maturation (phase de cicatrisation proprement dite).

Ces étapes font partie d'un processus hautement régulé au cours duquel ces phases se chevauchent, s'entrelacent, et se provoquent **(Gonzalez et al., 2016)**.

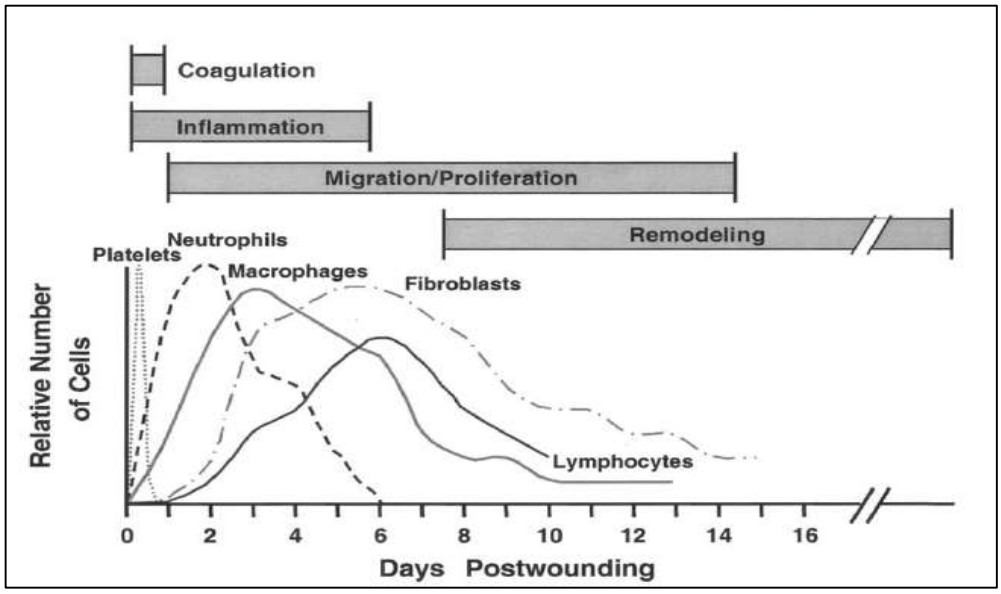


Figure 16 : Chronologie des différentes phases de cicatrisation physiologique **(Park et Barbul, 2004)**

3.4.1 La phase d'hémostase

C'est la phase initiale qui se produit dans les secondes ou les minutes qui suivent la brèche vasculaire. La première réaction étant une vasoconstriction localisée induite par l'élasticité de la tunique sous endothéliale, et par la sécrétion de la sérotonine, l'endothéline et le Tromboxane A2 (TXA2) par les endotheliocytes et les plaquettes activées. Il s'ensuit l'activation, l'adhésion et l'agrégation des plaquettes sanguines au site de la plaie, avec formation du clou plaquettaire (thrombus blanc) et la sécrétion du contenu de leurs granules entre autres les facteurs procoagulants et certains facteurs de croissance indispensables à la cicatrisation.

De manière concomitante, le déclenchement de la coagulation aboutit à l'insolubilisation de la fibrine grâce à l'action du fibrinogène activé. Ce thrombus de fibrine, auquel s'ajoute de la fibronectine plasmatique, stabilise le clou plaquettaire et incorpore différents éléments sériques, des leucocytes et des globules rouges. On parle alors de thrombus rouge **(Singh et al., 2017, Gantwerker et Hom, 2011).**

Le rôle du caillot ainsi formé permet l'arrêt de l'hémorragie, assure la protection physique des tissus exposés par la blessure cutanée, forme une barrière temporaire à la pénétration des germes pathogènes exogènes, constitue une MEC provisoire qui comble le déficit tissulaire engendré par la blessure cutanée et offre un réservoir aux nombreux facteurs de croissance : PDGF (Platelet-derived growth factor), bFGF (basic fibroblast growth factor),

TGF α et β (Transforming Growth Factor) …, qui sont responsables de la migration et de l'activation des PNN (polynucléaires neutrophiles) et des MAC.

Il s'agit donc d'un phénomène initial et capital qui donnera le coup d'envoi de la cicatrisation, à la fois de la phase détersivo-inflammatoire et de la phase de prolifération cellulaire.

3.4.2 La phase inflammatoire

Cette phase est caractérisée par une vasodilatation permettant aux cellules circulantes d'affluer sur le site de la plaie sous l'effet de plusieurs facteurs dont l'histamine, kinine, leucotriènes et les prostaglandines **(Senet, 2007).**

Une réponse humorale et cellulaire s'en suit, elle peut être séparée en deux phases :

3.4.2.1 La phase inflammatoire précoce

Les PNN et les monocytes sont recrutés par chimiotactisme au site de la plaie, non seulement par les facteurs libérés par les plaquettes mais également par les peptides bactériens, et les produits de dégradation de la fibrine (Figure 17).

Les PNN sont les premiers leucocytes présents au site de la plaie (24-36 heures (H)), leurs rôle principal sera de nettoyer la plaie des microorganismes pathogènes qui l'ont envahie et des débris cellulaires et tissulaires qui s'y trouvent, par phagocytose et détersion chimique/enzymatique, et la libération des enzymes protéolytiques comme l'élastase, collagénases, et des cytokines pro-inflammatoires : IL-1 (Interleukine-1), IL-6 (Interleukine-6), TNF (Tumor necrosis factor) qui participent au recrutement et à la prolifération des fibroblastes et des kératinocytes.

Dès que leurs tâches sont achevées, la migration des PNN cesse, leurs activités chutent, ils disparaissent par la suite en quelques jours, par apoptose ou phagocytés par les monophage/MAC.

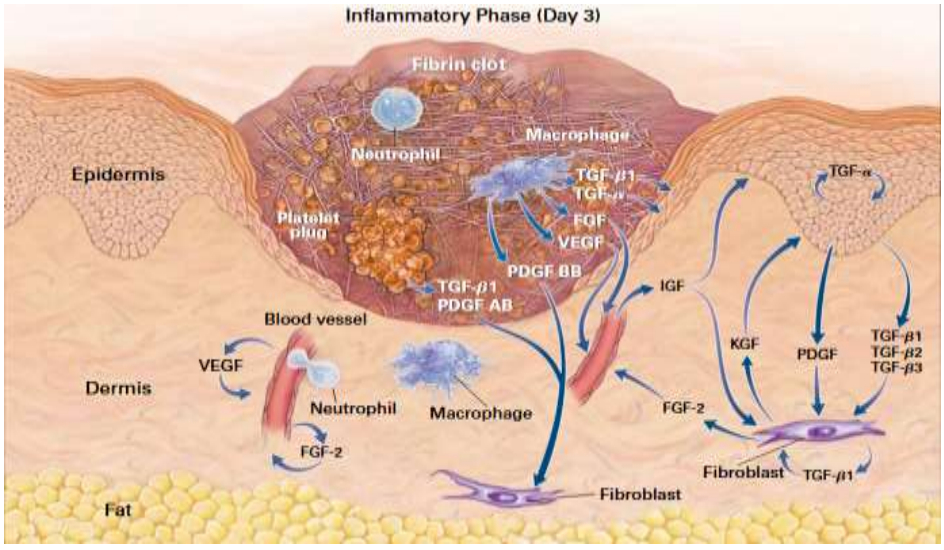


Figure 17 : Illustration de la phase d'inflammation **(Singer et Clark, 1999)**

3.4.2.2 La phase inflammatoire retardée

Entre 48 et 72 H après l'apparition de la plaie, les MAC prédominent, principalement par migration des monocytes sanguins vers la plaie et leur différenciation en MAC. Ces leucocytes participent à une action anti-infectieuse et dans la clairance des PNN mais aussi dans des activités plus complexes notamment dans l'activation du plasminogène permettant la synthèse de la plasmine, qui assure la dissolution progressive du caillot de fibrine et le remodelage de la MECp, le maintien et l'amplification de l'inflammation par production de cytokines et de chimiokines pro inflammatoires IL-1, IL-6, et TNF, la production de nombreux facteurs de croissance (TGF-α, TGF-β, PDGF, VEGF : Vascular endothelial growth factor,..) qui stimulent les fibroblastes et les cellules endothéliales à entrer en action. Les MAC favorisent ainsi la transition de la phase inflammatoire à la phase prolifération subséquente **(Senet, 2007, Velnar et al., 2009)**

3.4.3 La phase prolifération

Durant la phase de prolifération (Figure 18), le tissu de granulation, encore appelé tissu de bourgeonnement, va se développer. Il est constitué de MAC, et d'une population dense de fibroblastes et surtout de myofibroblastes **(Hinz et al., 2012).**

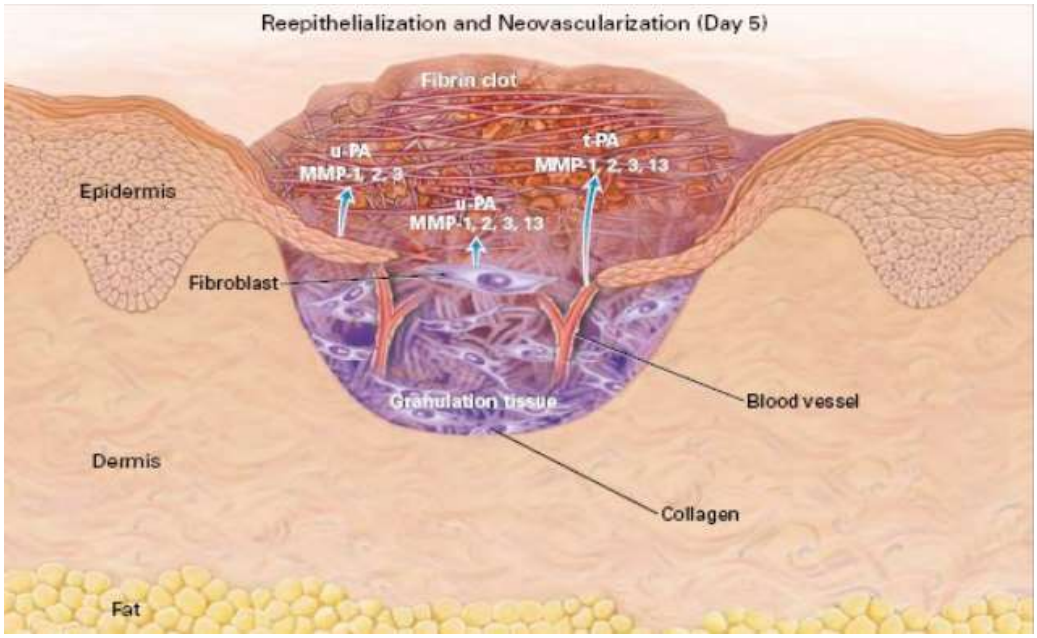


Figure 18 : Illustration de la phase de prolifération **(Singer et Clark, 1999)**

Cette phase dure 10 à 15 jours et correspond aux processus suivants :

A- La synthèse de la MEC

La migration des fibroblastes vers la plaie est précoce (48^{éme} H), elle se fait sur la trame de la fibrine présente dans le caillot et sous la dépendance des cytokines produites par les plaquettes et les MAC, tel que IGF-1, EGF, le TNF α, le TGF β et le PDGF **(Senet, 2007).** Les fibroblastes s'y multiplient puis, à la faveur d'un changement de phénotype, produisent les constituants d'une MEC riche en collagène immature (type III), en GAGS (Glycosaminoglycanes), en protéoglycanes et en acide hyaluronique.

D'autre part, elles sollicitent la migration et la prolifération des kératinocytes au site de la plaie par la production de kératinocytes growth factor (KGF-1, KGF-2) et d'interleukines (IL-6).

Le tissu de granulation en voie de synthèse, va remplacer la MECp formée lors de la phase d'hémostase et en cours de dégradation par les MAC, il comblera progressivement le déficit tissulaire créé par la blessure cutanée **(Senet, 2007, Singh et al., 2017, Wang et al., 2018).**

B- La contraction

Au fur et à mesure que la quantité de collagène synthétisée augmente, la division et la synthèse de fibroblastes diminuent et ceux-ci se transforment en myofibroblastes à propriétés contractiles contribuant ainsi au rapprochement des berges et à la réduction de la taille de la plaie **(Modarressi et al., 2010).**

C- L'angiogenèse

Parallèlement, la migration des endothéliocytes s'effectue à partir des vaisseaux sanguins sains les plus proches sous la dépendance du FGFB et des composants de la MEC (fibronectine, protéoglycane). Elle est encore stimulée par l'hypoxie tissulaire et facilitée par les protéases dégradant la MEC. L'angiogénése aboutit à la formation d'un réseau vasculaire indifférencié assurant la vascularisation de la plaie **(Singh et al., 2017).**

D- L'épithélialisation

C'est le dernier processus de la phase prolifération qui se déroule en trois phases à savoir : La migration des kératinocytes à partir des berges ou les annexes (12-24 H), leur prolifération maximale (entre 48-72 H), suivi de la différenciation de l'épiderme ainsi formé.

Lorsque la plaie est fermée par une monocouche de kératinocytes, ceux-ci acquièrent alors leur phénotype de différenciation habituelle, synthétisent les kératines, les filaggrine, l'involucrine. Ce n'est qu'à la fin du processus de prolifération que se produit la colonisation de l'épiderme par les cellules de Langerhans et les Mélanocytes.

3.4.4 La phase de remodelage

Elle correspond à la maturation de la cicatrice avec histologiquement une transformation du tissu de granulation primaire en tissu épithélialisé cicatriciel et ce, pendant plusieurs mois voir une année ou plus.

Les collagénases, les gélatinases et leurs inhibiteurs (TIMP : Tissue inhibitors of metalloproteinases), les protéases synthétisées par les fibroblastes, les polynucléaires et les MAC principalement, interviennent de façon importante dans les phénomènes de remodelage matriciel, qui consiste à un équilibre entre la dégradation de la matrice formée lors de la phase proliférative et la biosynthèse d'un tissu cicatriciel mature résistant.

La matrice déposée depuis le début de la fibroblasie, initialement riche en collagène de type III, en fibronectine et en acide hyaluronique, continue à être dégradée et remplacée par une matrice de collagène de type I, de fibres élastiques, de sulfates de chondroïtine et de dermatane **(Mirastschijski et al., 2010 ; Arndt et Thioly-Bensoussan, 2007)**. D'autre part :

- Les fibres de collagène se réorientent dans le sens des tensions cutanées afin d'accroitre la résistance tissulaire.
- Le réseau vasculaire se réorganise en plexus dermique superficiel et profond avec arrêt de l'angiogénése.
- Le néoderme s'appauvrit peu à peu en fibroblastes par phénomène d'apoptose, et les cellules inflammatoires commencent à quitter la matrice.
- L'innervation est globalement rétablie toutefois, la réapparition des annexes n'est pas systématique.

La contraction de la cicatrice atteint 80% à 90% de sa force finale vers la 6^{éme} semaine, cependant elle ne représente qu'environ 15 % de celle de la peau normale.

Il s'agit donc essentiellement de modifications qualitatives qui aboutissent en 18 mois environ à un tissu aussi proche que possible du tissu initial.

PARTIE PRATIQUE

Objectif et déroulement des travaux

L'utilisation de plantes médicinales pour le traitement de diverses affections cutanées a été populaire pendant des décennies. Elle est souvent simplement basée sur la tradition, sans aucune validation scientifique **(Fronza et al, 2009).**

L'objectif principal de ce travail de thèse est de vérifier l'usage traditionnel d'une plante cicatrisante utilisée par la population locale à travers une recherche phytochimique et pharmacologique.

Deux objectifs secondaires ont également étaient fixés : le premier étant de tirer les marqueurs chémotaxonomiques d'une plante issue de la flore algérienne et le second est de participer à l'élaboration d'une pharmacopée traditionnelle Algérienne.

Pour se faire une enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes (Chapitre 1) utilisées en médecine traditionnelle auprès des habitants et des herboristes a été réalisée dans le but de permettre d'une part d'étudier les relations multiples et complexes que nouent l'homme avec son environnement végétal et d'autre part de contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle Algérienne.

Suite aux enquêtes ethnobotaniques, une recherche documentaire a été réalisée dans le but de sélectionner l'espèce la moins étudiée. Une étude botanique de l'espèce choisie (Chapitre 2) a été initiée par une étude macroscopique suivie d'une étude microscopique, histoanatomique et palynologique dans le but d'élaborer une identification rapide de l'espèce.

L'étude phytochimique de l'espèce sélectionnée (Chapitre 3) a permis l'extraction, la purification, l'isolement et l'analyse structurale des métabolites secondaires ce qui contribue à la recherche et le développement de futurs médicaments. Les structures chimiques des composés purs naturels isolés ont été élucidées par l'analyse de données spectroscopiques : La résonance Magnétique Nucléaire RMN 1D- (1H, 13C), RMN 2D (^{1}H-^{1}H COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HMBC) et la spectrométrie de masse (ESI- et HR ESI- MS).

L'étude biologique (Chapitre 4) à travers l'évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo* chez les rats Wistar et l'activité antioxydante *in vitro* nous a permis de confirmer son usage traditionnel, mais avant cela il etait indispensable de réaliser le test de tolérance cutanée sur un model animal, ceci vise à prédire le risque toxicologique chez l'homme.

Les études botaniques ont été réalisées dans le laboratoire de Botanique Médicale de la Faculté de Médecine d'Oran. Les réactions phytochimiques classiques ont été réalisées dans le Laboratoire de Botanique Médicale de la Faculté de Médecine d'Oran et le service de Toxicologie de l'EHU d' Oran. La préparation des pommades pour évaluer l'activité

cicatrisante de la plante sélectionnée a été réalisée au Laboratoire de Pharmacie galénique de la Faculté de Médecine d'Oran. L'étude histopathologique a été effectuée au service Anatomopathologie de l'hôpital pédiatrique de Canastel, Oran.

L'extraction, la purification, l'isolement et l'élucidation de la structure des composés actifs ont été réalisés au Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR Sciences de Santé de l'Université de Bourgogne, Dijon (France).

Chapitre 1 : Enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes

1.1 Population et méthodes

1.1.1 Population

Une enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle a été réalisée durant une période d'une année (mai 2016 à mai 2017).

Le nombre de sujet nécessaire (n) pour notre étude a été calculé à partir de la formule :

$n= t^2$ x **$p\ (1-p)/m^2$**, sur la base d'une prévalence (p) de 80 % **(WHO, 2002).** Il s'agit d'une prévalence retrouvée en Afrique, parce qu'en Algérie et dans les pays limitrophes, aucune étude sur la prévalence de l'utilisation des plantes cicatrisantes n'a été retrouvée. Un écart réduit (t) fixé à 1,96 et une marge d'erreur(m) de 0,055

$$n= (1,96)^2\ 0,8(1-0,8)/(0,055)^2$$

En tenant compte de ces facteurs, le nombre calculé est de 203. La taille d'échantillon final prise lors de notre étude est de **2040 (1850 habitants et 190 herboristes)** (Tableau 7).

Les participants à l'enquête ont été informés de notre étude et un consentement préalable donné en connaissance de cause a été demandé verbalement **(Rosenthal, 2006).**

1.1.2 Méthodes

Il s'agit d'une étude transversale descriptive menée dans seize (16) villes d'Algérie (l'ouest, le centre, l'est et le sud du pays) (Tableau 7 et 8).

Tableau 7 : Localisation des régions d'études

Localisation	**Ouest**	**Centre**	**Est**	**Sud**
Villes	Chlef Mostaganem Oran Sidi bel abbés Tissemssilt Tlemcen	Alger Médea Tizi Ouzou	Annaba Bejaia Constantine Oum el Bouaghi Skikda	Bechar Ghardaia

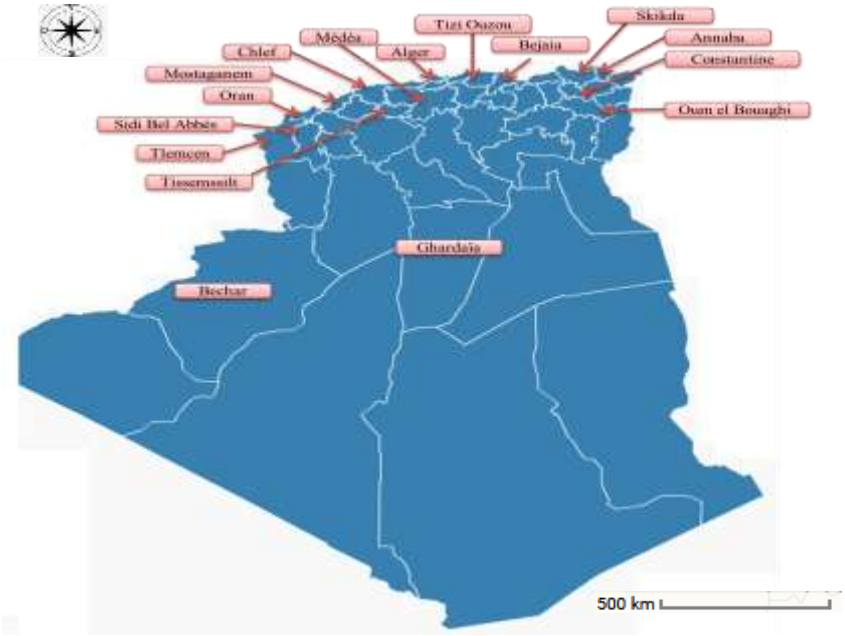


Figure 19 : Localisation des régions d'études

L'enquête est basée sur un questionnaire préalablement établi (Annexe 2)

Le questionnaire comporte deux parties. La première concerne des informations portant sur les herboristes et les habitants (l'âge, le sexe, le niveau d'étude, la situation professionnelle, la situation financière, l'habitat), et la seconde sur les plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle (le nom vernaculaire de la plante, la partie utilisée, la pathologie traitée, le mode de préparation, le mode d'administration, la posologie et la durée de traitement).

Le temps consacré à chaque entrevue était d'environ 15 minutes. L'entrevue a été menée sans limite de temps ou pression pour permettre aux informateurs de répondre naturellement aux questions, suivant le code de déontologie de l'ISE (International Society of Ethnobiology: www.ethnobiology.net). L'interrogatoire a été réalisé en langue arabe ou en français selon le niveau éducatif et culturel de la personne interrogée. Les habitants ont été interrogés dans les places publiques (Mairies, universités, jardins publics, marchés) et les herboristes dans leurs lieux d'exercices.

L'enquête menée sur des plantes cicatrisantes n'était valable que si la même plante a été citée au moins trois fois par différentes personnes **(Al-Qura'n, 2009, Boudjelal et al., 2013).**

La flore de Quezel et Santa (1962-1963) et la flore d'Afrique du Nord de Maire (1952-1987) ont servi à la détermination. Nous avons également utilisé la base de données en ligne *www.theplantlist.org* pour vérifier les noms scientifiques et les synonymes des plantes.

Un échantillon de chaque espèce est déposé dans l'herbier du Laboratoire de Botanique Médicale de la faculté de Médecine d'Oran et d'Alger.

Critère d'inclusion

- Habitants et herboristes qui acceptent de participer à l'enquête et maîtrisant la langue arabe et à un moindre degré la langue française.

Critère de non inclusion :

- Habitants et herboristes dont l'âge est inferieur à 20 ans.

Critère d'exclusion

- Habitants et herboristes qui ont refusé de communiquer dont le nombre etait de 153 habitants et 20 herboristes.

Tableau 8 : Répartition de la population d'étude par ville

	Habitants	**Herboristes**	**Total**
Alger	188	22	**210**
Annaba	88	5	**93**
Bejaia	75	7	**82**
Bechar	109	11	**120**
Constantine	83	10	**93**
Chlef	120	20	**140**
Ghardaia	119	15	**134**
Oran	174	28	**202**
Oum el bouaghi	114	7	**121**
Médea	119	9	**128**
Sidi bel abbes	80	11	**91**
Skikda	61	6	**67**
Tissemssilt	95	6	**101**
Tizi Ouzou	193	11	**204**
Tlemcen	122	12	**134**
Mostaganem	110	10	**120**
Total	**1850**	**190**	**2040**

1.1.3 Traitement des données

Les données rapportées sur les fiches d'enquêtes ont été ensuite traitées et saisies sur un logiciel de gestion de base de données IBM SPSS Statistics Version 20. L'analyse des données a fait appel aux méthodes de statistiques descriptives. Les résultats ont été transférés sur Microsoft Excel pour être présentés sous forme de tableaux, de diagramme et d'histogrammes.

Les résultats ont été analysés et comparés à plusieurs études ethnobotaniques nationales et internationales en ayant recours à des bases de données électroniques scientifiques (PubMed, Scopus, Elsevier et GoogleScholar).

1.1.4 Calculs d'indices

Des indices utilisés dans les enquêtes ethnobotaniques quantitatives ont été calculés dans le but d'évaluer l'importance relative des plantes.

1.1.4.1 Fréquence de citation

La fréquence de citation (FC) représente le nombre d'informateurs locaux ayant déclaré une utilisation médicinale traditionnelle de l'espèce **(Tardío et Pardo de Santayana, 2008)** .

1.1.4.2 Fréquence relative de citation

La fréquence relative de citation (RFC) permet d'évaluer la valeur traditionnelle et l'importance médicale de chaque espèce végétale dans une zone d'étude. Elle a été calculée en utilisant la formule **(Tardío et Pardo de Santayana, 2008)** :

RFC= FC/N, N : nombre total d'informateurs.

1.1.4.3 Valeur d'usage

L'indice de valeur d'usage (UV) est une approche quantitative qui évalue l'importance relative de chaque espèce de plantes médicinales en fonction de leurs utilisations traditionnelles parmi les informateurs **(Gilca et al., 2018, Kimpouni et al., 2019) ,** et il a été calculé comme suit **(Phillips et Gentry, 1993)** :

$$UV = \frac{\sum U}{n}$$

Où U : nombre de citations par espèce ; n : nombres d'informateurs.

1.1.4.4 Facteur consensuel de l'informateur

Le niveau de consensus des populations sur les usages des ressources ligneuses a été appréhendé par le calcul du Facteur de Consensus de l'Informateur (FCI) ou Informant Consensus Factor défini par Heinrich et *al* en 1998. La valeur du FCI est comprise entre 0 et 1. Elle indique l'étendue de l'homogénéité de l'information entre les informateurs. Une valeur élevée de FCI (prés de 1) est obtenue quand un seul ou un nombre réduit d'espèces est cité par une grande proportion d'informateurs pour une pathologie déterminée, ceci indique alors que les informateurs partagent le même avis sur l'utilisation des plantes. À l'inverse, sa valeur sera d'autant plus faible (plus proche de 0) quand une grande diversité d'espèces est citée pour un même usage c'est-à-dire que les plantes sont choisies de façon aléatoire

Le FCI est calculé par la formule suivante **(Alalwan et al., 2019)**:

$$FCI = \frac{Nur - Nt}{Nur - 1}$$

Nur : le nombre de fois qu'une catégorie particulière « p » a été mentionnée.

Nt : le nombre de plante(s) mentionnée(s) pour le traitement de cette affection particulière p.

1.1.4.5 Niveau de fidélité (NF) ou indice de Fidélité (FL)

L'indice de fidélité est le pourcentage d'informateurs ayant cité l'usage d'une espèce donnée pour traiter une maladie **(Ong et Kim, 2014)**. Il a été calculé comme suit **(Friedman et al., 1986)**:

$$FL\ (\%) = (N_p/N) \times 100$$

N_p : Nombre d'informateurs ayant affirmé l'emploi d'une espèce donnée pour traiter une maladie p.

N : Le nombre d'informateurs qui mentionnent l'espèce pour n'importe quel usage.

1.2 Résultats et discussions

1.2.1 Taux de participation à l'enquête ethnobotanique

Parmi les personnes interrogées, 2040 personnes soit 92,19 % ont accepté de participer à l'enquête alors que 173 personnes soit 7,81 % ont refusé de collaborer (Figure 20).

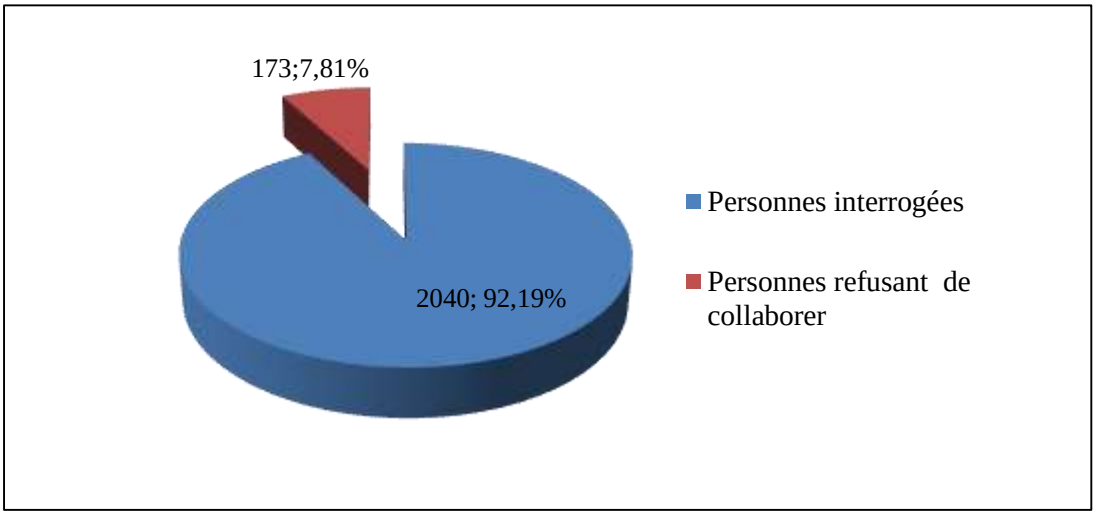


Figure 20 : Taux de participation à l'étude.

1.2.2 Répartition selon le sexe

Parmi la population interrogée, 50% sont de sexe masculin et 50% sont de sexe féminin (Figure 21). Chez les herboristes, les hommes dominent la pratique de la médecine traditionnelle à 98,4%.

Seuls 1,6 % des herboristes (soit 3 herboristes sur les 190 herboristes interrogés) sont de sexe féminin ce qui est probablement due aux traditions culturelles de la région où les femmes ne sont pas encouragées à exercer cette profession, le même résultat a été rapporté dans une étude réalisée en 2013 **(Boudjelal et al., 2013).**

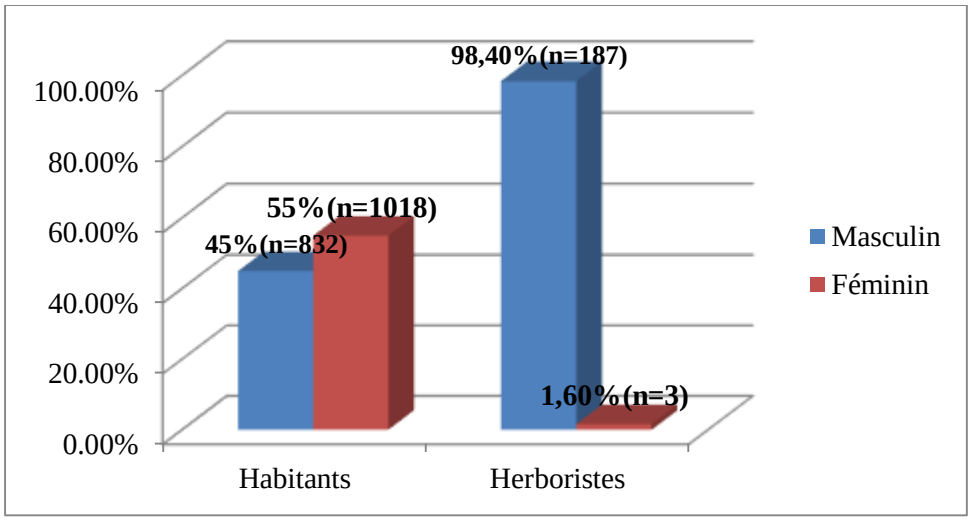


Figure 21 : Répartition de la population d'étude selon le sexe

1.2.3 Répartition selon la tranche d'âge

L'âge de la population d'étude varie entre 20 ans à 78 ans avec une moyenne d'âge de 41,18 ± 12,2 ans. La majorité d'entre eux (545 soit 26,7 %) ont une tranche d'âge qui varie entre 20 à 29 ans (Tableau 9). L'âge moyen des habitants est de 40,71±12,14 ans et celui des herboristes est de 45,70 ± 11,85 ans. Ils ont acquis leurs connaissances d'une génération à une autre, permettant ainsi la conservation de ce savoir.

Lors de cette étude, l'âge moyen des herboristes est proche de celui rapporté dans plusieurs enquêtes ethnobotanique réalisées en Algérie **(Boudjelal et al., 2013, Benarba et al., 2015, Ouelbani et al., 2016).**

Tableau 9 : Répartition de la population selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	**Habitants** (n=1850) (nombre ;%)	**Herboristes** (n=190) (nombre ;%)	**Total** (nombre ;%)
20-29	(525 ; 28,38%)	(20 ; 10,53%)	(545 ; 26,7%)
30-39	(450 ; 24,32%)	(41 ; 21,58%)	(491 ; 24,1%)
40-49	(402 ; 21,73%)	(53 ; 27,89%)	(455 ; 22,3%)
50-59	(283 ; 15,30%)	(49 ; 25,79%)	(332 ; 16,3%)
60-69	(171 ; 9,24%)	(23 ; 12,10%)	(194 ; 9,5%)
70-79	(19 ; 1,03%)	(4 ; 2,11%)	(23 ; 1,1%)

1.2.4 Répartition selon le niveau d'éducation

Seuls 6,8% des herboristes soit 13 herboristes ont suivi des études universitaires (Figure 22).

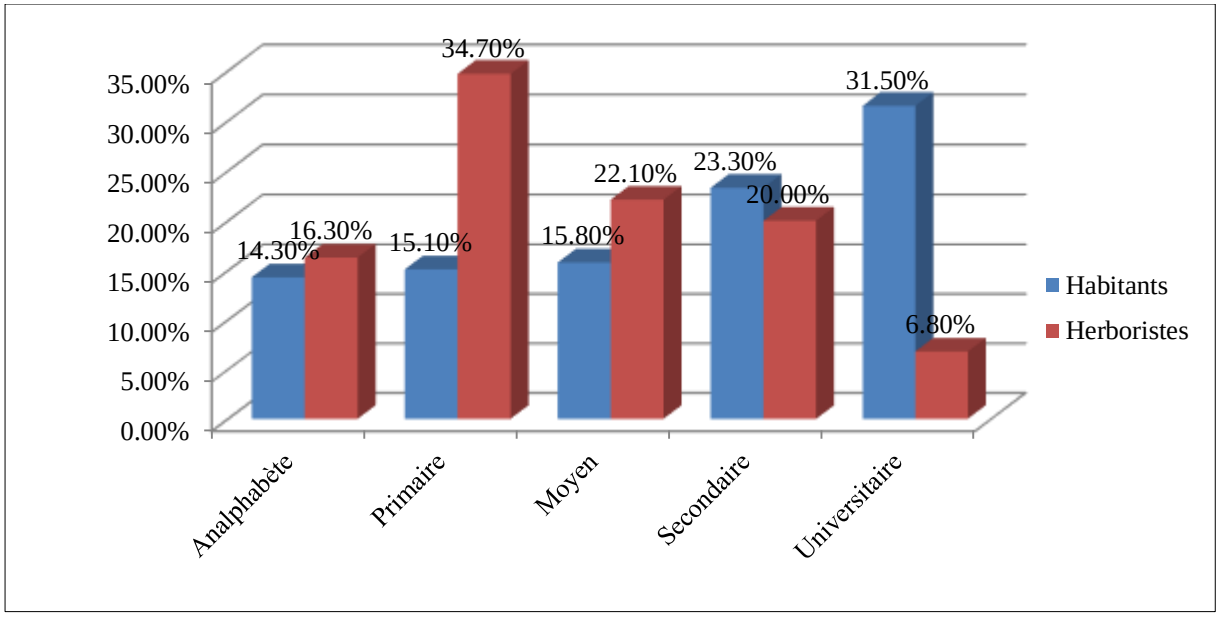


Figure 22 : Répartition de la population selon le niveau d'éducation

1.2.5 Formation des herboristes

Sur les 190 herboristes interrogés, seuls deux (2) herboristes (1,10 %) ont suivi une formation spécialisée (Figure 23).

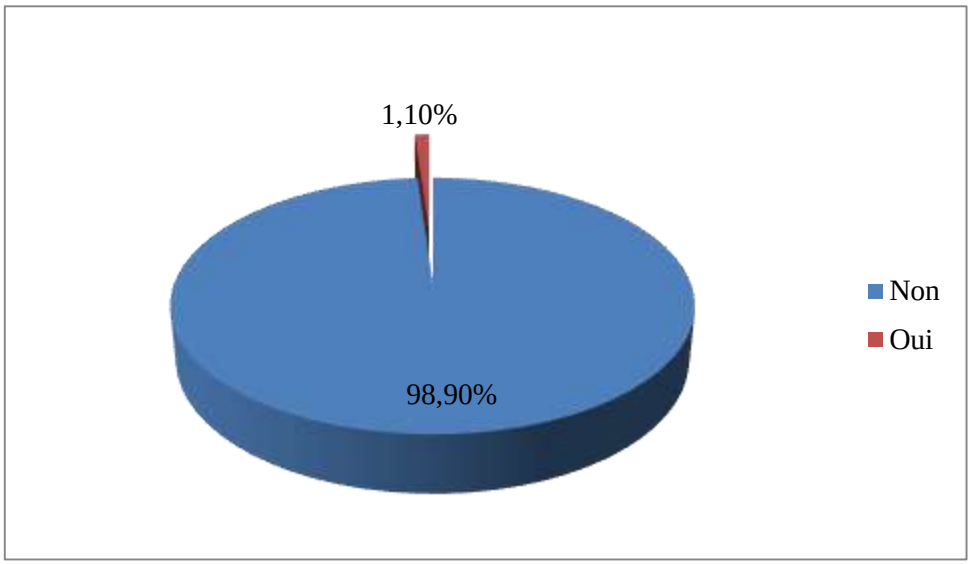


Figure 23: Répartition des herboristes selon la formation

1.2.6 Expérience professionnelle des herboristes

L'expérience professionnelle des herboristes interrogées varie d'une année à 49 années. Plus que la moitié d'entre eux (environ 68 %) ont une expérience de moins de 24 années (Tableau 10).

Tableau 10 : Répartition des herboristes selon l'expérience professionnelle

Expérience professionnelle (année)		**Herboriste (n=190)** (nombre ;%)	
0-24	**1-4**	(12 ; 6,3%)	130 ; 68,42 %
	5-9	(35 ; 18,4%)	
	10-14	(31 ; 16,3%)	
	15-19	(16 ; 8,4%)	
	20-24	(36 ; 18,9%)	
24-49	**25-29**	(22 ; 11,6%)	60 ; 31,58 %
	30-34	(23 ; 12,1%)	
	35-39	(7 ; 3,7%)	
	40-44	(2 ; 1,1%)	
	45-49	(6 ; 3,2%)	

1.2.7 Répartition de la population selon l'utilisation des plantes médicinales

Environ 77 % des habitants interrogés ont déjà eu recours aux plantes médicinales (Tableau 11).

Tableau 11 : Répartition des habitants selon l'utilisation des plantes

	Habitants (n=1850) (nombre ;%)
Utilisateurs de plantes	(1420 ; 76,8 %)
Non utilisateurs	(430 ; 23,2 %)

1.2.8 Répartition des habitants selon la situation professionnelle et financière

Environ 53 % des habitants utilisateurs de plantes sont des travailleurs permanents, 28,6 % d'entre eux sont financièrement satisfait (Tableau 12). Le recours à la médecine traditionnelle ne se limite pas donc à une certaine catégorie de la population.

Tableau 12 : Répartition des habitants selon la situation professionnelle et financière

	Habitants (n=1850) (nombre ;%)	**Habitants utilisateurs de plantes (n=1420)** (nombre ;%)
Situation professionnelle		
Sans profession	(712 ; 38,5 %)	(527 ; 37,1 %)
Travailleur occasionnel	(169 ; 9,1 %)	(148 ; 10,4 %)
Travailleur permanent	(969 ; 52,4 %)	(745 ; 52,5 %)
Situation Financière		
Non satisfait	(352 ; 19,0 %)	(223 ; 15,7 %)
Plus ou moins satisfait	(852 ; 46,1 %)	(674 ; 47,5 %)
Satisfait	(501 ; 27,1 %)	(406 ; 28,6 %)
Fort satisfait	(145 ; 7,8 %)	(117 ; 8,2 %)

1.2.9 Répartition selon l'habitat

La grande majorité des habitants utilisateurs de plantes vivent en milieu urbain, ceci est probablement dû aux lieux d'enquêtes, ces dernières ont été réalisées le plus souvent aux centres villes (Tableau 13).

Tableau 13: Répartition de la population d'étude selon l'habitat

Habitat	**Habitants (n=1850)** (nombre ;%)	**Habitants utilisateurs de plantes (n=1420)** (nombre ;%)	**Herboristes (n=190)** (nombre ;%)
Zone rurale	(623 ; 33,7%)	(502 ; 35,35%)	(57 ; 30,0%)
Zone urbaine	(1227 ; 66,3%)	(918 ; 64,65%)	(133 ; 70,0%)

1.2.10 Répartition des habitants selon les circonstances d'utilisations des plantes

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 14, environ 48 % des habitants préfèrent utiliser des plantes médicinales avant d'avoir recours à la médecine conventionnelle.

Tableau 14 : Répartition des habitants selon les circonstances d'utilisations des plantes

Circonstances d'utilisations des plantes	**Habitants (n=1420)** (nombre ; %)
Avant d'avoir recours à la médecine conventionnelle	(686 ; 48,3%)
Apres échec de la médecine conventionnelle	(227 ; 16,0%)
En complément de celle la médecine conventionnelle	(507 ; 35,7%)

1.2.11 Répartition des habitants selon les causes du recours à la phytothérapie

Parmi les habitants interrogés, 46,6 % estiment que le recours à la phytothérapie est sans danger (Tableau 15).

Tableau 15 : Répartition des habitants selon les causes du recours à la phytothérapie

Causes du recours à la phytothérapie	**Habitants (n=1420)** (nombre ; %)
Sans danger	(662 ; 46,6%)
Plus efficace	(387 ; 27,3%)
Habitude	(371 ; 26,1%)

1.2.12 Répartition des habitants selon leurs sources de connaissances

Les sources de connaissances en rapport avec la phytothérapie sont transmises principalement d'une génération à une autre (59,3 % des cas) d'où l'intérêt de faire des enquêtes ethnobotaniques dans tout le territoire national dans le but de mettre en place une pharmacopée traditionnelle Algérienne (Tableau 16).

Tableau 16 : Répartition des habitants selon leurs sources de connaissances

Sources de connaissances (nombre ; %)	**Habitants (n=1420)**
Héritage familier	(842 ; 59,3%)
Herboriste	(233 ; 16,4%)
Pharmacien	(32 ; 2,3%)
Médecin	(22 ; 1,5%)
Culture générale	(291 ; 20,5%)

1.2.13 Répartition des habitants selon la conduite à tenir devant une atteinte cutanée

Devant une atteinte cutanée, certains habitants utilisateurs de plantes préfèrent associer la phytothérapie avec la médecine conventionnelle (Tableau 17).

Tableau 17 : Répartition des habitants selon la conduite à tenir lors d'une atteinte cutanée

Traitement	Habitants (n=1420)
Phytothérapie	(630 ; 44,4%)
Phytothérapie + Consultation médicale	(486 ; 34,2%)
Phytothérapie + Consultation pharmaceutique	(304 ; 21,4%)

Le risque d'interactions médicamenteuses avec les plantes est plus élevé quand le consommateur associe la phytothérapie au traitement conventionnel **(Williamson et al , 2009).**

1.2.14 Biodiversité

L'analyse des résultats de l'enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle, fait ressortir **96** plantes appartenant à **45** familles (Tableau 18). Vu le manque de certaines parties des plantes recensées, on s'est contenté de la détermination du nom de genre sans pour autant préciser le nom de l'espèce. Les plantes recensées ont été identifiées à l'aide des flores spécifiques et des sites de références : (www.theplantlist.org), (http://www.ipni.org).

Les plantes cicatrisantes recensées appartiennent principalement à la famille des Lamiaceae (12 espèces), Asteraceae (11 espèces), Fabaceae (10 espèces), Apiaceae (5 espéces), Solanaceae et Myrtaceae (3 espèces chacune) (Figure 24).

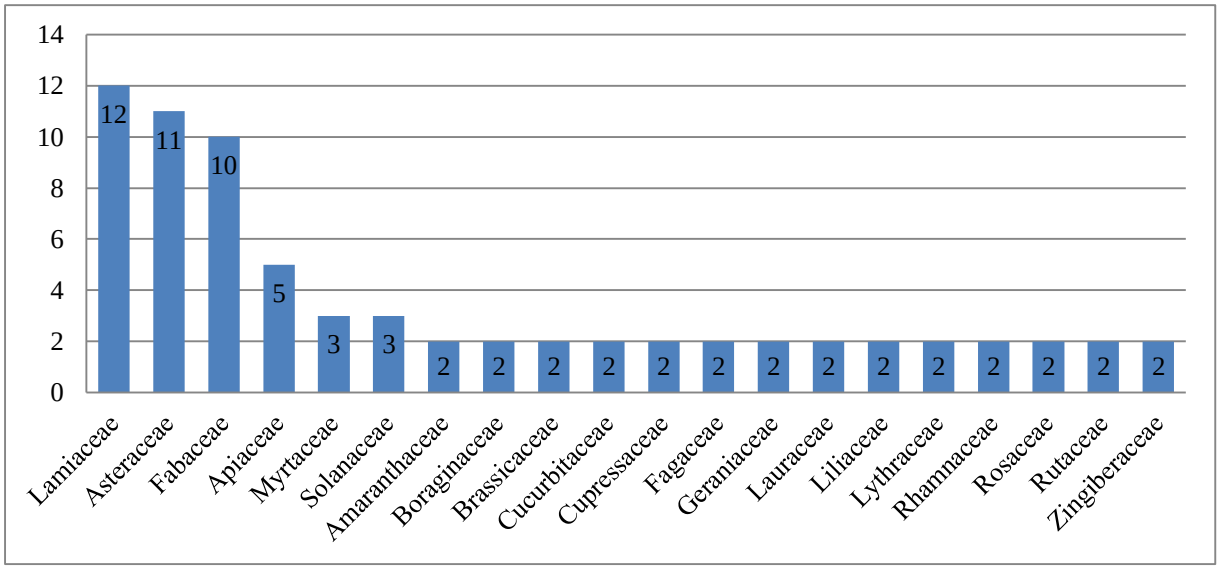


Figure 24 : Répartition des plantes médicinales selon la fréquence des familles botaniques.

Notre résultat rejoint en partie celui d'une enquête réalisée en Iran en 2016, suite à laquelle 67 plantes cicatrisantes ont été recensées. Elles appartiennent principalement à la famille des Fabaceae, Asteraceae, Scrophulariaceae et Plantaginaceae **(Jivad et al., 2016).**

Une enquête réalisée en Afrique du sud en 2014, a fait ressortir 106 plantes appartenant à 61 familles. Les plus représentatives sont les Solanaceae et les Asteraceae **(Afolayan et al., 2014).**

Dans une autre étude réalisée en Pakistan en 2010, 27 plantes cicatrisantes appartenant à 23 familles ont été rapportées. Les principales sont les Asteraceae, les Meliaceae, les Renonculaceae et les Rosaceae **(Abbasi et al., 2010).**

Les plantes cicatrisantes font alors parties des familles qui peuvent variées d'une région à une autre selon la flore locale et leurs disponibilités **(Afolayan et al., 2014).**

Tableau 18: Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle algérienne

Famille	Nom scientifique	Nom français	Nom locale	FC	RFC	UV	Validation pharmacologique en rapport avec l'activité cicatrisante
Amaranthaceae	*Beta vulgaris* L.	Bettrave.	Elbetrave	6	0,004	0,004	Aucune validation
Anacardiaceae	*Pistacia lentiscus* L.	Lentisque	Darw	441	0,274	0,479	**(Rauf et al., 2017)**
Apiaceae	*Carum carvi* L.	Cumin	Kamoune	2	0,001	0,001	Aucune validation
	Daucus carota L.	Carotte	Zrodiya	3	0,002	0,002	**(Patil et al., 2012)**
	Foeniculum vulgare Mill.	Fenouille	Bessbasse	5	0,003	0,003	**(Keskin et al., 2017)**
	Petroselinum crispum (Mill.) Fuss	Persil	Maadnousse	2	0,001	0,001	Aucune validation
	Pimpinella anisum L.	Anis vert	Habet el hlawa	2	0,001	0,001	**(Hashemnia et al., 2019)**
Apocynaceae	*Nerium oleander* L.	Laurier rose	Dafla	3	0,002	0,003	**(Akgun et al., 2017)**
Araliaceae	*Hedera helix* L.	Lierre	Lawaille	1	0,001	0,001	**(Motaghi et al., 2017)**
Aristolochiaceae	*Aristolochia* sp	Aritoloche	Baroustoum	2	0,001	0,002	**(Shirwaikar et al., 2003)**
Asteraceae	*Artemisia absinthium* L.	Absinthe	Chiba	2	0,001	0,002	**(Moslemi et al., 2012)**
	Artemisia herba-alba Asso	Armoise	Chih	5	0,003	0,003	Aucune validation
	Atractylis gummifera Salzm. ex L.	Chardon à glu	Ladad	4	0,002	0,001	**(Sifour et al., 2012)**
	Calendula officinalis L.	Le Souci		1	0,001	0,001	**(Nicolaus et al., 2017)**
	Carthamus caeruleus L.	Cardoncelle bleue	Amarseggous	33	0,020	0,034	**(Dahmani et al., 2018)**
	Cynara cardunculus L.	Cardon sauvage	Thaga	2	0,001	0,002	Aucune validation
	Helminthotheca echioides (L.) Holub syn *Picris echioides* L.	Picride fausse vipérine	Halafa/Hlafa	18	0,011	0,020	Aucune validation
	Inula viscosa (L.) Aiton	Inule visqueuse	Megraméne	187	0,116	0,210	**(Khalil et al., 2007)**
	Matricaria recutita L.	Camomille sauvage	Babounj	14	0,009	0,012	**(Nayak et al., 2007)**
	Pulicaria odora (L.) Rchb.	Pulicaire odorante	Amezough ilef	27	0,017	0,035	Aucune validation
	Scolymus hispanicus L.	Scolymbe d'Espagne	Guernina	1	0,001	0,001	Aucune validation.

Tableau 18 : Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle (suite)

Berberidaceae	*Berberis* sp	Épine-vinette	Ghriss	4	0,002	0,003	**(Pashaee et al., 2016)**
Boraginaceae	*Borago officinalis* L.	Bourrache	El harcha	14	0,009	0,017	**(kaboli et Haghighat, 2017)**
	Symphytum sp	Consoude		2	0,001	0,003	**(Araújo et al., 2012)**
Brassicaceae	*Brassica oleracea* L.	Choux	korkoum	22	0,014	0,025	**(Rebolla et al., 2013)**
	Lepidium sativum L.	Cresson alénois	Hab el rched	4	0,002	0,003	Aucune validation
Costaceae	*Costus* sp	Costus indien	Kast el hindi	3	0,002	0,004	**(Kp et al., 2018)**
Crassulaceae	*Crassula* sp	Crassule	Chayanna	11	0,007	0,007	Aucune validation
Cucurbitaceae	*Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.	Coloquinte	Hantal	3	0,002	0,006	**(Gupta et al., 2018)**
	Cucumis sativus L.	Concombre	Khiar	1	0,001	0,001	**(Patil et al., 2011)**
Cupressaceae	*Cupressus sempervirens* L.	Cyprés	El sarw	3	0,002	0,002	**(Tumen et al., 2012)**
	Juniperus oxycedrus L.	Genévrier cade	Araar	64	0,040	0,047	**(Tumen et al., 2012)**
Euphorbiaceae	*Ricinus communis* L.	Ricin	Kharwaa	9	0,006	0,006	**(Jena et Gupta, 2012)**
Fabaceae	*Ceratonia siliqua* L.	Caroubier	Kharoub	4	0,002	0,002	Aucune validation
	Cicer arietinum L.	Pois chiche.	Homouss	3	0,002	0,002	**(Al-Snafi, 2016)**
	Cytisus trifolius Briq.	Cytisus triflorus	El Aliatou	6	0,004	0,004	Aucune validation
	Cytisus scoparius (L.) Link	Genêt à balais	Ouzou	1	0,001	0,002	Aucune validation
	Glycyrrhiza glabra L.	Réglisse	Ark elsousse	2	0,001	0,002	**(Sam et al., 2001)**
	Lens culinaris Medik.	Lentille	Adasse	29	0,018	0,018	Aucune validation
	Phaseolus vulgaris L.	Haricot	Loubia	1	0,001	0,001	Aucune validation
	Retama sp	Retam	Rtém	1	0,001	0,002	Aucune validation
	Trigonella foenum-graecum L.	Fenugrec	Helba	15	0,009	0,019	**(Ktari et al., 2017)**
	Vicia faba L.	Fève	El foul	2	0,001	0,002	Aucune validation
Fagaceae	*Quercus infectoria* G.Olivier	Chêne d'Alep	Afssa	27	0,017	0,031	**(Umachigi et al., 2008)**
	Quercus suber L.	Chêne-liège	Dbagha.	92	0,057	0,074	Aucune validation
Geraniaceae	*Erodium cicutarium* (L.) L'Hér.	Bec de grue		1	0,001	0,001	Aucune validation
Globulariaceae	*Globularia* sp	Globulaire	Tassalgha	1	0,001	0,001	**(Ghlissi et al., 2016)**
Iridaceae	*Crocus sativus* L.	Safran	Zaafrane	2	0,001	0,001	**(Khorasani et al., 2009)**
Lamiaceae	*Ajuga iva* (L.) Schreb.	Ivette	Chendgoura	4	0,002	0,004	Aucune validation
	Melissa officinalis L.	Mélisse		3	0,002	0,002	Aucune validation
	Lavandula officinalis Chaix	Lavande	Khozama, Amzir	41	0,025	0,047	**(Mori et al., 2016)**

Tableau 18 : Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle algérienne (suite)

	Marrubium vulgare L.	Marrube blanc	Marriwa	54	0,034	0,058	**(Amri et al., 2017)**
	Mentha × piperita L.	Menthe	Flyo	6	0,004	0,004	**(Modarresi et al., 2018)**
	Origanum majorana L.	Marjolaine		1	0,001	0,001	Aucune validation
	Origanum vulgare L.	Origan	Zaater	4	0,002	0,005	**(Moslemi et al., 2015)**
	Phlomis bovei de Noé	Phlomis	Khayata, Jaida	174	0,108	0,181	Aucune validation
	Rosmarinus officinalis L.	Romarin	Aklil ,yazir	39	0,024	0,039	**(Abu-Al-Basal, 2010)**
	Salvia officinalis L.	Sauge	khayatta, siwak el nabi	140	0,087	0,145	**(Farahpour, 2017)**
	Teucrium polium L.	Germandrée	Khayatta	41	0,025	0,032	**(Ansari et al., 2011)**
	Thymus sp	Thym	Zaitra	46	0,029	0,038	**(Dursun et al., 2003)**
Lauraceae	*Cinnamomum* sp	Cannelle	Karfa	9	0,006	0,008	**(Ahmadi et Ghasemi, 2015)**
	Laurus nobilis L.	Laurier noble	El rand	7	0,004	0,006	**(Nayak et al., 2006)**
Liliaceae	*Allium cepa* L.	Oignon	Bssal	18	0,011	0,021	**(Shenoy et al., 2009)**
	Allium roseum L.	Ail	Thoum lahmar	11	0,007	0,016	Aucune validation
Linaceae	*Linum usitatissimum* L.	Graine de Lin	Katéne	1	0,001	0,001	**(Rafiee et al., 2016)**
Lythraceae	*Lawsonia inermis* L.	Henné	Henna	70	0,043	0,080	**(Salih et al., 2017)**
	Punica granatum L.	Grenadier	Roméne	154	0,096	0,121	**(Nasiri et al., 2017)**
Malvaceae	*Malva sylvestris* L.	Mauve sauvage	Khobiz	7	0,004	0,010	**(Ghasemi Pirbalouti et al., 2010)**
Musaceae	*Musa* sp	Bananier	Mouz	9	0,006	0,008	Aucune validation
Myrtaceae	*Eucalyptus globulus* Labill.	Eucalyptus	Kalitousse	9	0,006	0,012	**(Hukkeri et al., 2002)**
	Myrtus communis L.	Myrte	El rihane	3	0,002	0,003	**(Raeiszadeh et al., 2018)**
	Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry	Giroflier	Krounfoul	12	0,007	0,011	**(Silva et al., 2019)**
Oleaceae	*Olea europaea L.*	Olivier	Zitoune	142	0,088	0,148	**(Hangan et al., 2016)**
Pinaceae	*Pinus halepensis* Poir.	Pin	El bourhoum	32	0,020	0,029	**(Süntar et al., 2011)**
Plantaginaceae	*Plantago* sp	Plantago	Meçaisa	32	0,020	0,034	**(Abdulla et Phipps, 2006)**
Ranunculaceae	*Nigella sativa* L.	Huile de nigelle	Habba sawda	10	0,006	0,009	**(Nourbar et al., 2019)**
Rhamnaceae	*Atriplex* sp	Atriplex	Gtaf	2	0,001	0,002	Aucune validation

Tableau 18 : Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle algérienne (suite)

	Rhamnus alaternus L.	Alaterne	Melilesse	1	0,001	0,001	Aucune validation
	Ziziphus sp	Jujubier	Sedra	47	0,029	0,052	**(Vafaei et Abdollahzadeh, 2015)**
Rosaceae	*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb	Amandier	Louz	10	0,006	0,011	**(Al-Deen et al., 2019)**
	Rubus sp	Ronce commune	Toutelbarri	47	0,029	0,034	**(Van de Velde et al., 2019)**
Rubiaceae	Coffea sp	Caféier	Kahoua	71	0,044	0,070	**(Hartati et al., 2019)**
Rutaceae	*Citrus limon* (L.) Osbeck	Citronnier	Limoune	28	0,017	0,022	**(Ahmad et al., 2013)**
	Citrus sinensis (L.) Osbeck	Oranger		5	0,003	0,006	**(Ahmad et al., 2013)**
Sapotaceae	*Argania spinosa* (L.) Skeels	Argan	Arguéne	5	0,003	0,006	**(Dakiche et al., 2017)**
Solanaceae	*Capsicum annuum* L.	Piment		4	0,002	0,004	Aucune validation
	Solanum lycopersicum L.	Tomate	Tomatisse	7	0,004	0,004	**(Edibamode Ei, 2018)**
	Solanum tuberosum L.	Pomme de terre	Batata	18	0,011	0,015	Aucune validation
Theaceae	*Camellia sinensis* (L.) Kuntze	Le théier	El chay	32	0,020	0,032	**(Hajiaghaalipour et al., 2013)**
Urticaceae	*Urtica dioica L.*	Ortie commune	Horigue	22	0,014	0,021	**(Zouari Bouassida et al., 2017)**
Verbenaceae	*Verbena officinalis* L.	Verveine	Louisa	1	0,001	0,001	Aucune validation
Vitaceae	*Vitis vinifera* L.	Vigne	Inab	7	0,004	0,006	**(Fakhim et al., 2015)**
Xanthorrhoeaceae	*Aloe vera* (L.) Burm.f.	Aloès des Barbades	Sebar	86	0,053	0,101	**(Moghbel et al., 2007)**
Zingiberaceae	*Curcuma longa* L.	Curcuma	Corcoum	5	0,003	0,003	**(Mehrabani et al., 2015)**
	Zingiber officinale Roscoe	Gingembre	Zenjabil	5	0,003	0,004	**(Mohamed, 2017)**
Zygophyllaceae	*Zygophyllum* sp	Zygophyllum	Aguaya	14	0,009	0,013	Aucune validation

Les enquêtes ethnobotaniques deviennent utiles lorsque l'on songe à découvrir de nouvelles molécules conformes à une médecine moderne utilisant la sagesse traditionnelle. Certaines plantes rapportées sont très communes et ont déjà fait preuve d'évaluations pharmacologiques, telles que l'*Aloe vera* (L.)Burm.f., *Cinnamomum* sp, *Curcuma longa* L. (Tableau 18).

Un certain nombre de principes actifs isolés de plantes ont été testés *in vivo* et ont prouvé leurs effets cicatrisants. Parmi les plus importants figurent les polysaccharides d'*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., la curcumine de *Curcuma longa* L. **(Kumar et al., 2007).**

Des études ont montré que la plupart des composés bioactifs dérivés de plantes qui possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires ont un fort potentiel d'être cicatrisants, puisque ces principaux mécanismes contribuent au phénomène de cicatrisation **(Chingwaru et al., 2019).**

1.2.15 Calculs d'indices

Lors du calcul des indices, seuls les personnes qui ont recours aux plantes cicatrisantes ont été incluses dans l'étude c'est-à-dire 1420 habitants et 190 herboristes ce qui est équivalent à 1610 personnes.

1.2.15.1 Fréquence de citation

Après analyse des résultats (Figure 25), les plantes cicatrisantes les plus citées par ordre décroissant sont : *Pistacia lentiscus* L., *Inula viscosa* (L.) Aiton, *Phlomis bovei* de Noé, *Punica granatum* L., *Olea europaea* L., *Salvia officinalis* L., *Quercus suber* L., *Aloe vera* (L.) Burm.f. , *Coffea* sp, *Lawsonia inermis* L., *Juniperus oxycedrus* L.

Dans une enquête réalisée au Maroc en 2018, les plantes cicatrisantes les plus utilisées par la population locale sont : *Pinus halepensis* Mill. , *Cynara humilis* L. et *Salvia verbenaca* L. **(Salhi et al., 2018).**

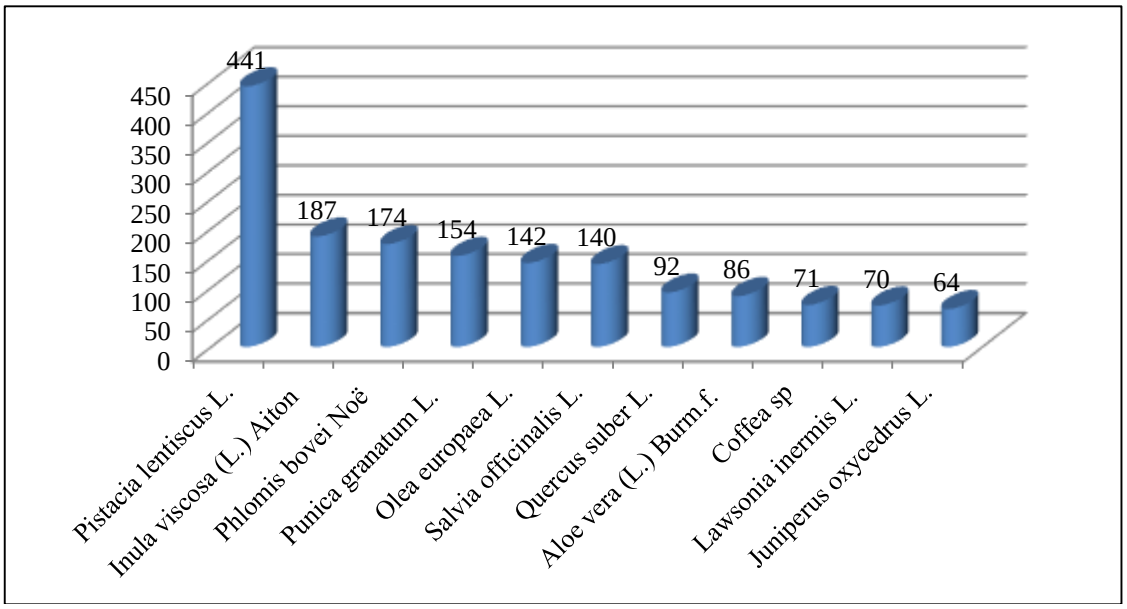


Figure 25 : Les plantes cicatrisantes les plus citées

Une recherche documentaire sur l'activité biologique des plantes sus-citées a été effectuée :

Pistacia lentiscus L. : Selon une étude réalisée en 2017, l'huile lentisque à une dose de 1 ml appliquée pendant quatre jours a favorisé la contraction de la plaie et a réduit la période d'épithélialisation dans un modèle de brûlure chez le lapin. La résine de *P.atlantica* a entrainé une amélioration de l'angiogénése, après 14 jours de traitement. Le mécanisme thérapeutique consistait à augmenter la concentration en facteur de croissance basique des fibroblastes et en facteur de croissance dérivé des plaquettes. Le phénomène de cicatrisation serait expliqué par une augmentation de la prolifération des fibroblastes, de la teneur en hydroxyproline et de la néovascularisation **(Rauf et al., 2017).**

Inula viscosa (L.) Aiton : Les résultats d'une étude réalisée en 2007 confirment que la cicatrisation est accélérée par l'application d'un extrait de partie aérienne, ceci a été expliqué par son effet anti-inflammatoire qui est bien documenté **(Khalil et al., 2007).**

Phlomis bovei de Noé , *Quercus suber* L : l'activité cicatrisante n'a pas été documentée.

Punica granatum L. : Une étude réalisée sur l'extrait méthanolique de l'épicarpe de *P. granatum* a montré qu'il possède une bonne activité cicatrisante. L'analyse par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) de l'extrait a révélé qu'il est riche en polyphénols, principalement de l'acide gallique et de la catéchine **(Murthy et al., 2004).**

Olea europaea L. : L'activité cicatrisante de l'huile d'olive a été étudiée dans le cas de brûlures cutanées induites chez des rats traités par application topique. L'analyse de l'huile

d'olive par CG-MS a montré la présence d'acides gras qui peuvent être responsable de l'effet thérapeutique **(Hangan et al., 2016).**

Salvia officinalis L. : *Farahpour* en 2017 a démontré que l'extrait hydro-éthanoliques des feuilles facilite la contraction de la plaie, réduit le temps de cicatrisation et augmente le dépôt de collagène.

Aloe vera (L.) Burm.f. : Des études *in vivo* ont démontré que le gel d'*Aloe vera* favorise la cicatrisation des plaies en stimulant directement l'activité des MAC et des fibroblastes. Il a été rapporté que le gel augmente la synthèse du collagène, favorisant ainsi la cicatrisation. Certains des principes actifs semblent être des polysaccharides composés de plusieurs monosaccharides, principalement du mannose. Il a été suggéré que le 6-phosphate de mannose, le principal composant du gel, pourrait être en partie responsable des propriétés cicatrisantes **(WHO, 1999)**

Lawsonia inermis L. : Les résultats d'une étude réalisée par Salih et collaborateurs en 2017 sur des rats suite à une excision de la peau ont révélé que l'extrait de feuilles d'henné a des effets remarquables sur la cicatrisation **(Salih et al., 2017)**.

Juniperus oxycedrus L. : Le collagène est une importante protéine matricielle extracellulaire qui confère force et intégrité au tissu. Une pommade à base d'huile essentielle de *J.oxycedrus* a entrainé une élévation du taux de l'hydroxyproline dans les tissus régénérés chez les rats suite à une excision de la peau ce qui indique une synthèse accrue du collagène **(Tumen et al., 2012).**

1.2.15.2 Valeur d'usage

La valeur UV, a également été calculée afin de déterminer l'importance relative de la plante dans la zone d'étude par rapport à son utilisation (Tableau 18). Les plantes qui ont un indice UV le plus élevé sont citées par ordre décroissant : *Pistacia lentiscus* L., *Inula viscosa* (L.) Aiton., *Phlomis bovei* de Noé., *Olea europaea* L., *Salvia officinalis* L., *Punica granatum* L., *Aloe vera* (L.) Burm.f., *Lawsonia inermis* L., *Quercus suber* L., *Coffea* sp, *Marrubium vulgare* L, *Ziziphus* sp (Figure 26).

Dans une enquête réalisée en Pakistan en 2019, les valeurs les plus élevés étaient attribuées à *Acacia modesta* Wall., *Aloe barbadensis* Mill., *Azadirachta indica* A.Juss., tandis que *Punica granatum* L. a eu une valeur plus basse **(Siddique et al., 2019).** Dans une autre enquête réalisée en Afrique du sud en 2014, l'espèce ayant la plus grande valeur d'usage était l'*Aloe ferox* Mill., Xanthorrhoeaceae **(Afolayan et al., 2014).**

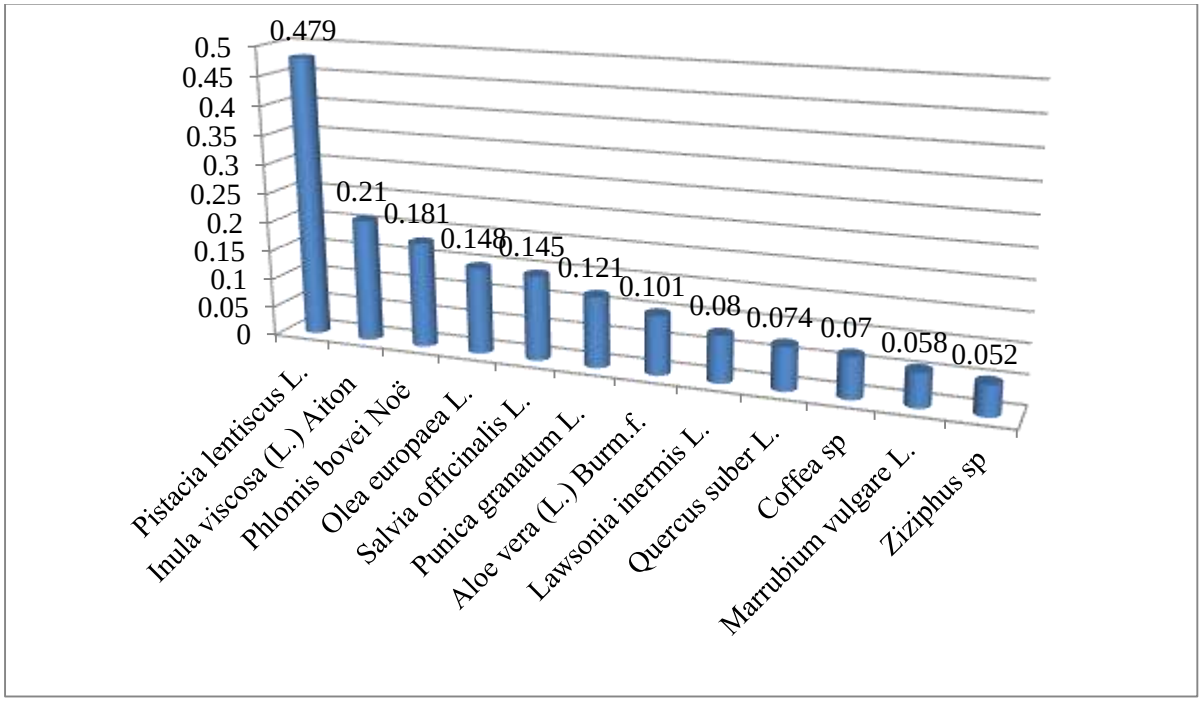


Figure 26 : Valeurs d'usage

1.2.15.3 Indice de Fidélité

L'indice FL est utilisé pour déterminer les plantes les plus fréquemment utilisées par les informateurs pour traiter une maladie particulière.

Selon nos résultats, vingt (20) espèces ont eu l'indice FL le plus élevé de l'ordre de 100%. On a constaté que la plupart des espèces qui ont un indice FL élevé ont un potentiel pharmacologique établi (Tableau 19)

Tableau 19: Principales plantes à indice de fidélité élevé

Pathologie	Plante	Fl (%)
Brulures	*Mentha × piperita* L.	100,00
	Solanum lycopersicum L.	83,33
	Camellia sinensis (L.) Kuntze	78,13
	Plantago sp	68,75
Ulcère	*Artemisia herba-alba* Asso	100,00
	Ceratonia siliqua L.	100,00
	Cupressus sempervirens L	100,00
	Foeniculum vulgare Mill.	100,00
	Punica granatum L.	64,94
	Quercus suber L.	63,04
Plaie superficielle	*Origanum majorana* L.	100,00
	Crassula sp	100,00
	Ricinus communis L.	100,00
	Capsicum annuum L.	100,00
	Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry	91,67
	Helminthotheca echioides (L.) Holub	88,89
	Malva sylvestris L.	85,71
	Matricaria recutita L	84,62
	Coffea sp	83,82
	Nigella sativa L.	80,00
	Zygophyllum sp	78,57
	Pulicaria odora (L.) Rchb.	77,78
	Lawsonia inermis L.	72,86
	Inula viscosa (L.) Aiton	71,89
	Phlomis bovei de Noé	68,39
Plaie fermées	*Lepidium sativum* L.	100,00
	Citrus sinensis (L.) Osbeck	100,00
	Costus sp	100,00
	Cytisus trifolius Briq.	100,00
	Allium roseum L.	81,82
	Prunus dulcis (Mill.) D.A.Webb	70,00
	Cinnamomum sp	66,67
Blessure	*Costus* sp	100,00
	Nerium oleander L.	100,00
	Allium roseum L.	100,00
	Zingiber officinale Roscoe	100,00
	Eucalyptus globulus Labill.	88,89
	Malva sylvestris L.	85,71
	Helminthotheca echioides (L.) Holub	77,78
	Pulicaria odora (L.) Rchb.	77,78
Eczéma	*Olea europaea L.*	51,4
Acné	*Curcuma longa* L.	100,00
	Cucumis sativus L.	100,00
	Petroselinum crispum (Mill.) Fuss	100,00
	Daucus carota L.	66,66
	Cinnamomum sp	55,56
	Citrus limon (L.) Osbeck	50,00
Plaies post opératoire	*Ziziphus* sp	70,21
	Eucalyptus globulus Labill.	33,33
Vergeture	*Allium cepa* L.	72.22
Furoncle	*Trigonella foenum-graecum* L.	80,00

1.2.15.4 Facteur consensuel de l'informateur FCI

Le FCI reflète l'homogénéité des informations fournies par la population d'étude concernant les plantes utilisées pour traiter une maladie donnée. En d'autres termes, dans le cas des pathologies où le FCI est élevé, ceci indique que les plantes ne sont pas prises d'une manière aléatoire et que les informateurs partagent les mêmes avis sur leurs utilisations.

Au total, 10 pathologies en rapport avec la cicatrisation ont été rapportées par la population d'étude. Les valeurs de FCI allaient de 0,68 à 0,94. La valeur FCI était élevée pour la plupart des maladies (La valeur FCI moyenne = 0,89). La plus élevée (FCI = 0,94) a été obtenue pour les affections suivantes : les plaies ouvertes superficielles, les plaies fermées et les cicatrices d'eczéma (Tableau 20).

Un FCI élevé est corrélé à des espèces qui pourraient être efficaces pour traiter une pathologie particulière. Ces espèces doivent être alors sélectionnées pour d'autres études complémentaires pharmacologiques et phytochimiques et constituent ainsi une source potentielle pour la recherche de composés bioactifs.

Tableau 20: Facteur consensuel de l'informateur FCI

Type d'affection	Nur	Nt	FCI
Blessure	987	72	0,92
Brulures	769	74	0,90
Cicatrice d'acné	45	15	0,68
Cicatrice d'eczéma	152	10	0,94
Cicatrice de furoncle	12	2	0,91
Plaie fermée	562	32	0,94
Plaie ouverte superficielle	1230	70	0,94
Plaies post opératoire	47	7	0,86
Ulcère	350	40	0,88
Vergeture	15	2	0,92

1.2.16 Répartition des plantes selon la partie utilisée

Depuis des temps immémoriaux, diverses parties de plantes ont été utilisées pour traiter et prévenir de nombreuses pathologies **(Siddique et al., 2019)**

Après analyse de nos résultats, la feuille s'est révélée être la partie de la plante la plus fréquemment utilisée (Figure 27). Un résultat similaire a été obtenu lors des enquêtes réalisées dans différentes régions du monde: en Pakistan **(Abbasi et al., 2010),** en Inde **(Kumar et al., 2007),** et en Afrique du Sud **(Afolayan et al., 2014).** Ce résultat reste encourageant aux fins du développement durable, du moment que les feuilles constituent une partie de la plante qui peut être régénérée facilement **(De Wet et al., 2013).**

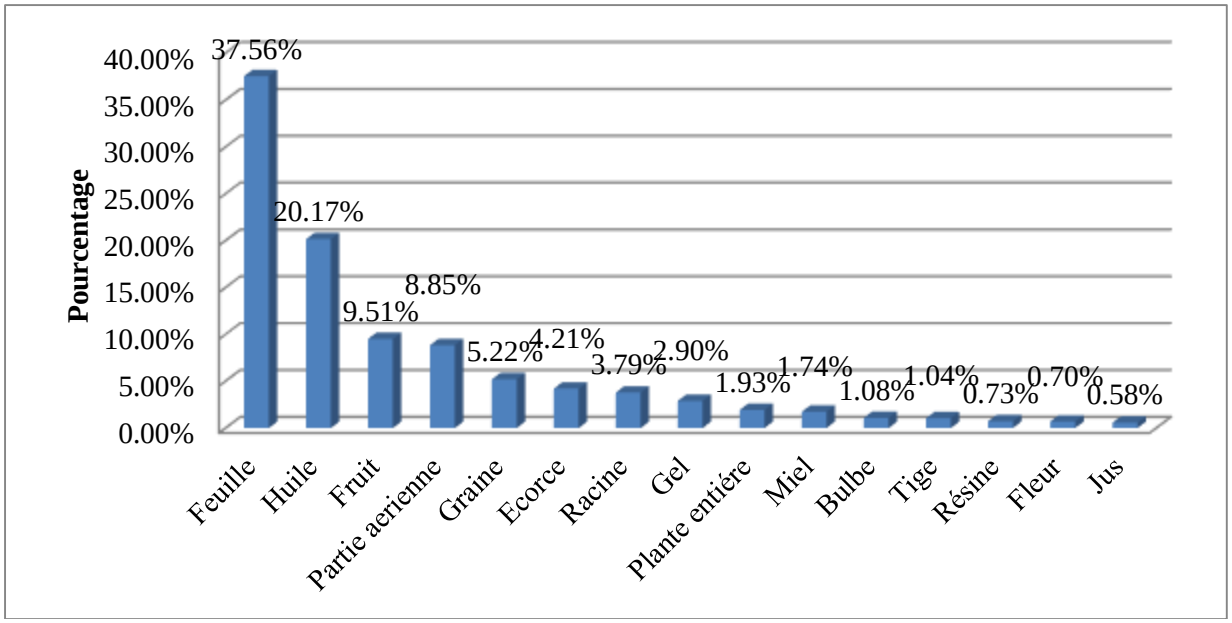


Figure 27 : Répartition des plantes selon la partie utilisée

1.2.17 Répartition des plantes selon le mode de préparation

Le mode de préparation le plus utilisé selon notre enquête est celui du cataplasme suivi par la poudre et la décoction (Tableau 21).

Lors d'une enquête semblable réalisée au Mali en 2004, le mode de préparation le plus conseillé par les tradipraticiens est la décoction et la poudre qui est appliquée directement sur la plaie **(Inngjerdingen et al., 2004).** Ces deux modes de préparations ont également été cités en première intention lors d'une enquête similaire réalisée au Pakistan en 2019 **(Siddique et al., 2019).**

D'une manière générale, il est important de respecter le mode de préparation, l'emploi de l'infusion est recommandé pour les parties fragiles de la plante (fruits, feuilles,…), tandis que la décoction convient pour les parties dures (racines, rhizome) **(Khitri et al., 2016).**

Tableau 21: Répartition des plantes selon le mode de préparation

Mode de préparation	Nombre	Pourcentage
Compresse	905	35,04
Poudre	615	23,81
Cataplasme	545	21,10
Décoction	241	9,33
Infusion	237	9,18
Macération	40	1,55
Fumigation	0	0,00
Total	**2583**	**100,00**

1.2.18 Répartition des plantes selon le mode d'administration

L'application locale est conseillée dans 83% des cas (Figure 28). Ce résultat coïncide avec celui retrouvé par *Afolayen* et collaborateurs en Afrique du sud **(Afolayan et al., 2014).**

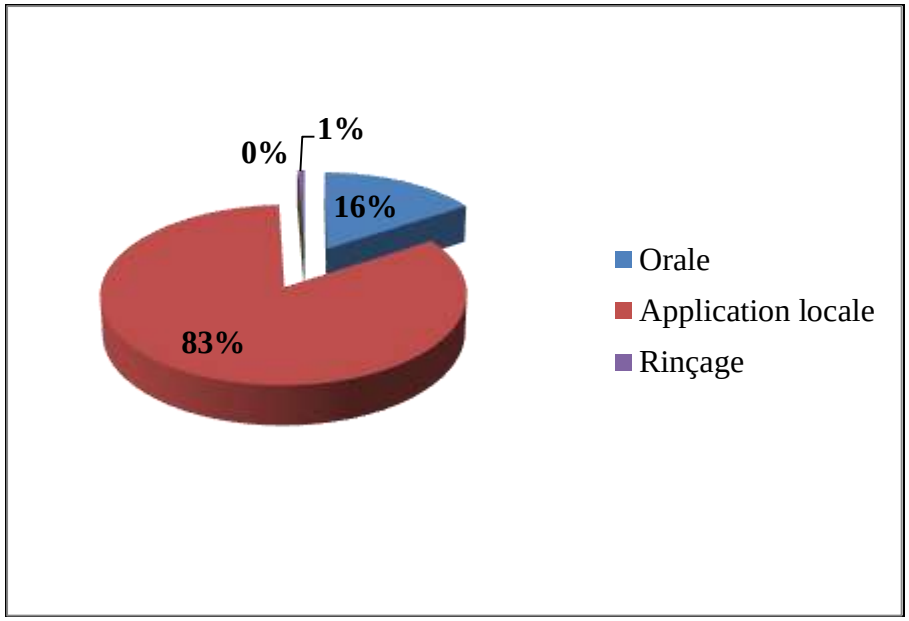


Figure 28 : Répartition des plantes selon le mode d'administration

1.2.19 Répartition des plantes selon leurs posologies

Selon les personnes ayant participé à l'enquête, les traitements à base de plantes sont pris tous les jours jusqu'à la guérison. Le résultat de la présente étude concorde avec celui d'une enquête ethnobotanique réalisée au Nigéria **(Adetutu et al., 2011).** Environ 44% des personnes enquêtées révèlent avoir pris les traitements à base de plantes deux fois par jour (Tableau 22).

Tableau 22: Répartition des plantes selon leurs posologies

Posologie	Nombre	Pourcentage (%)
1 fois par jour	978	37,86
2 fois par jour	1133	43,86
3 fois par jour	468	18,12
4 fois par jour	4	0,15
Total	**2583**	**100,00**

1.2.20 Répartition des plantes selon la toxicité signalée

Plusieurs types de toxicité ont été rapportés par les participants à l'enquête suite à la prise de cinq plantes réputées cicatrisantes (Tableau 23).

Tableau 23 : Types de toxicités signalées

Plante présumée toxique		Nombre de citation (Total =13)	Toxicité
Nom scientifique	**Nom français**		
Urtica dioica L.	Ortie commune	**1**	Irritation de la peau
Atractylis gummifera Salzm. ex L.	Chardon à glu	**4**	Toxicité hépatique
Allium roseum L.	Ail	**3**	Irritation de la peau Risque d'hypotension
Citrus limon (L.) Osbeck	Citronnier	**2**	Photo toxicité
Lavandula officinalis Chaix	Lavande	**1**	Etourdissement
Argania spinosa (L.) Skeels	Argan	**1**	Irritation de la peau
Ajuga iva (L.) Schreb.	Ivette	**1**	Risque d'hypoglycémie

L'irritation de la peau causée par l'ortie est probablement due à la concentration élevée d'acide formique présent dans les poils de l'ortie. D'autres études ont montré la présence dans les poils de l'histamine, de la sérotonine et de l'acétylcholine ce qui peut expliquer cette sensation de brûlure **(Cummings et Olsen, 2011)**. D'un autre coté, l'activité cicatrisante de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'ortie a été évaluée chez des rats Wistar. Les résultats ont montré une réduction de la période d'épithélialisation et d'angiogénése **(Zouari Bouassida et al., 2017)** ceci est peut être due à l'action des saponines **(Razika L, 2017).**

Lors de la présente enquête ethnobotanique, il a été constaté que le chardon à glu est utilisé en médecine traditionnelle pour ses propriétés cicatrisantes. La même plante est utilisée en Espagne pour les même propriétés **(Vallejo et al., 2009).** Sifour et collaborateurs en 2012 ont démontré l'effet cicatrisant de l'extrait aqueux **(Sifour et al., 2012).**

Le chardon à glu est une plante toxique par ingestion à cause de la présence de deux principaux diterpenoides glycosides : atractyloside et le carboxy-atractyloside **(Hammiche et al., 2013).** A noter que des analogues aux atractylosides ont également été trouvés dans l'extrait aqueux de *Coffea arabica* **(Danielea. C, 2005).**

Allium roseum : selon la littérature l'ail rouge n'a pas fait l'objet d'une évaluation de son activité cicatrisante, seule l'activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positives et à Gram négatives ainsi que son activité antioxydante a été étudiée **(Mejd et al., 2016)**, ce qui peut induire favorablement la cicatrisation **(Chingwaru et al., 2019).**

Ajuga iva : Il a été démontré que la prise orale de l'extrait aqueux de la plante a entrainé une hypoglycémie chez des rats diabétiques et normaux **(Hilaly et Lyoussi, 2002)**, aucune toxicité n'a été démontrée suite à l'utilisation topique.

1.2.21 Anomalies enregistrés lors de l'enquête

Durant notre enquête, le nom vernaculaire arabe «*Khayata* ou *Khayatet lajrah*» a été attribué par certains herboristes à trois espèces à savoir : *Phlomis bovei* de Noé, *Teucrium polium* L, *Quercus infecteria* L.

Le problème de la variabilité du nom vernaculaire pourrait causer des erreurs qui auront de graves conséquences sur la santé de l'homme, d'où la nécessité de la formulation d'un fichier de plantes médicinales.

1.2.22 Choix de la plante étudiée

A la lumière des résultats de l'enquête ethnobotanique, nous pouvons dire que les plantes indiquées en médecine traditionnelle ne devraient pas disparaître avant d'être complètement évaluées, ainsi, nous avons sélectionné une des plantes les plus citées et la moins étudiée ; celle-ci a subi une recherche phytochimique, une évaluation de son activité antioxydante et cicatrisante et l'isolement de ses principaux composés actifs.

La plante sélectionnée est le ***Phlomis bovei* de Noé, Lamiaceae**. Il s'agit d'une plante endémique à l'Afrique du nord, peu étudiée sur le plan phytochimique et pharmacologique. Plusieurs bases de données ont été consultées à savoir : Pubmed, Elsevier, Scopus, Google scholar. De plus, les essais biologiques sur l'extrait hydroalcoolique ont révélé un effet antioxydant et cicatrisant remarquable (voir Chapitre 4), ce qui a conforté le choix de cette espèce afin de valoriser la flore algérienne.

Chapitre 2 : Etude botanique du *Phlomis bovei* de Noé

2.1 Matériels et méthodes

2.1.1 La récolte

Deux échantillons de *P. bovei* ont été récoltés. Le premier récolté en avril 2018 au Mont Bissa, un massif montagneux situé au cœur du Dahra dans la wilaya de Chlef (Algérie). C'est l'une des plus grandes forêts d'Algérie. L'altitude moyenne est de 1550 m.

Le deuxième échantillon à été récolté dans les montagnes de Zmala en juin 2018, située au Sud-ouest de la daïra de Lakhdaria, wilaya de Bouira (Algérie). L'altitude moyenne est de 400 m. Lakhdaria est située à 33 km au Nord-ouest de Bouira et à 75 km au Sud-est d'Alger (Figure 29). Un spécimen a été conservé au laboratoire de Botanique Médicale d' Oran sous la référence Pb0035.







Echantillon **A** Echantillon **B**

Figure 29 : Localisation géographique des deux lieux de récolte

A : Mont Bissa (Chlef), B : Montagnes de Zmala (Bouira)

2.1.2 Le séchage et la conservation

La plante récoltée a été nettoyée puis séchée à l'étuve (*Selecta,* France) à 25 °C pendant 24 H), puis conservée à l'abri de la lumière dans des sacs en papier Kraft.

Pour réaliser une étude anatomique, un échantillon a été conservé dans de l'alcool formolé acétique, AFA (10: 1: 0,5).

2.1.3 Etude botanique du *Phlomis bovei* de Noé

La détermination de la plante récoltée est indispensable pour confirmer l'identité de l'espèce, ceci nécessite une étude morphologique, anatomique ainsi qu'une étude de la poudre et du pollen.

2.1.3.1 Etude morphologique

L'étude morphologique de la plante a été faite par une observation à l'œil nu suivie par un examen à la loupe binoculaire (*Zeiss,* Allemagne) des différentes parties de la plante dans le but de tirer les principales caractéristiques de l'appareil végétatif et reproducteur et les comparer à celles qui figurent dans les flores algériennes.

2.1.3.2 Etude histo-anatomique

La technique de la double coloration a été adoptée pour l'étude histo-anatomique de la tige, la racine, et la feuille **(Geneves, 1962)**. Les colorants utilisés sont le vert de méthyle et le rouge Congo.

Des coupes transversales et longitudinales ont été réalisées grâce à une lame de rasoir. Suite à cela les coupes ont été recueillies immédiatement dans de l'eau pour éviter leur desséchement. Cette technique repose principalement sur la nature chimique de la paroi. Elle permet de colorer les parois végétales comme suit :

- Les parois cellulosiques sont colorées en rose.
- Les parois lignifiées sont colorées en vert.
- Les parois subérifiées sont colorées en marron.
- Les parois cutinisées sont colorées en jaune.

La technique de double coloration comprend les étapes suivantes :

- Traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 à 20 min ce qui permet la destruction du contenu cellulaire sauf les substances minérales, ainsi seules les parois cellulaires persistent.
- Rinçage des coupes à l'eau distillée
- Traitement des coupes avec de l'acide acétique pendant 1 min afin de neutraliser l'effet alcalin de l'hypochlorite de sodium, ceci va permettre une meilleure fixation des colorants.

- Traitement des coupes avec le vert de méthyle, pendant 5 min.
- Rinçage des coupes à l'eau distillée.
- Traitement des coupes au rouge Congo pendant 3 min.
- Rinçage des coupes à l'eau distillée.
- Montage dans la glycérine entre lame et lamelle.

Les coupes ont été observées au microscope photonique (*Ceti*, Belgique) du plus faible au plus fort grossissement.

2.1.3.3 Etude palynologique

La palynologie apporte des éléments utiles en systématique, elle permet également de décrire l'histoire d'un environnement végétal et ses variations, dues aux phénomènes naturels, comme les changements climatiques, et aux activités humaines : déforestations...

L'étude du grain de pollen du *P.bovei* a été adoptée selon la méthode de WODEHOUSE et celle de l'acétolyse d'EDTMAN.

2.1.3.3.1 Méthode de WODEHOUSE

La méthode consiste à :

- Retirer les anthères des fleurs non épanouis pour éviter toutes formes de contamination
- Triturer les anthères avec une pince sur une lame de verre.
- Déposer quelques gouttes d'éthanol 90% qui en séchant crée une auréole de matière dissoute.
- Recommencer l'opération jusqu'à ce que l'alcool ne dissolve plus rien.
- Ajouter quelques gouttes de l'huile à immersion **(Wodehouse, 1935).**
- Recouvrir la préparation avec une lamelle et passer à l'observation microscopique

2.1.3.3.2 Méthode d'EDTMAN

Nous avons opéré comme suit :

- Ajouter dans un tube à essai, 10 ml d'acide acétique aux anthères préalablement triturées.
- Eliminer l'acide après agitation et centrifugation.
- Ajouter sur le culot 2 ml de mélange acétolytique (0,2 ml d'acide sulfurique pur dans 1,8 ml d'anhydride acétique) et placer au bain marie à 80° pendant 10 min.
- Après centrifugation, le culot est rincé à l'eau distillée. Agiter, et centrifuger à nouveau.
- Faire le montage avec de la glycérine pure **(Gadbin, 1979).**

2.1.3.4 Etude de la poudre

Une pincée de la poudre de plante préalablement broyée a été mise entre lame et lamelle avec quelques gouttes du réactif de Gazet du Chatelier **(Upton, 2011).** Les éléments

anatomiques caractéristiques ont été recherchés à l'aide d'un microscope optique (*Ceti*, Belgique) en balayant toute la surface de la préparation.

2.2 Résultats et discussions

2.2.1 Etude morphologique du *Phlomis bovei* de Noé

2.2.1.1 Appareil végétatif

Plante herbacée vivace grâce à un rhizome sur le quel s'insère les racines adventives. La tige principale est dressée, velue, à section carrée dont la longueur varie de 50 cm à 80 cm, conformément à la description donnée dans la littérature **(Quézel et Santa, 1962).**

Les feuilles sont simples, tomenteuses à nervation pennée et à découpure crénelées. Les feuilles basales sont cordiformes, longuement pétiolées disposées en rosette, celles du sommet sont lancéolées opposées décussées (Figure 30).



A : Partie aérienne de la plante



B : Feuille basale cordiforme en rosette

Figure 30 : Appareil végétatif du *P. bovei.*

2.2.1.2 Appareil reproducteur

Inflorescence : Il s'agit d'une inflorescence indéfinie. Les fleurs sont sessiles disposées en épi de glomérules (Figure 31A).

La fleur est complète, bisexuée.

- Le périanthe : Hétérochlamyde.
  1. Calice : composé de cinq (5) sépales soudés (gamosépale), poilu, à dents triangulaires courtes qui représentent le 1/8 de la longueur du tube. A la base du calice s'insère une bractée florale ramifiée en trois bractéoles, velues, pointues à leur sommet (Figure 31B).
  2. Corolle : composé de cinq (5) pétales soudés (gamopétale), bilabié (2/3), zygomorphe poilue, de couleur rose claire (Figure 31C).
- L'androcée : formé de quatre (4) étamines libres entre elles (dialystémone). Androcée didyname corolliflore. Anthère à insertion basifixe, avec une déhiscence longitudinale introrse.
- Le gynécée : Ovaire supère (fleur hypogyne), bicarpellé, à quatre loges. Chaque loge est uniovulée. Les ovules possèdent une placentation axile. Le style est gynobasique (Figure 31 D,E).
- Fruit : sec indéhiscent (tétrakène).



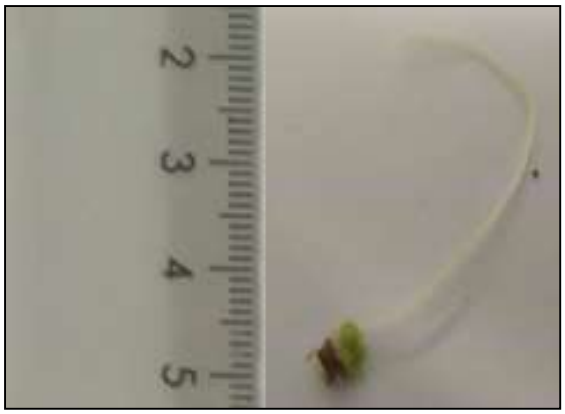
A : Inflorescence en épi de glomérule



B : Calice et Bractées florales



C : Corolle bilabiée



D : Style gynobasique



E : Ovaire à quatre loges

Figure 31 : Appareil reproducteur du *P. bovei*

Formule floral

FF: ⁘ ; (5S), [(5P), 2E+2e] ($2C^4_1$); tétrakéne

Diagramme floral

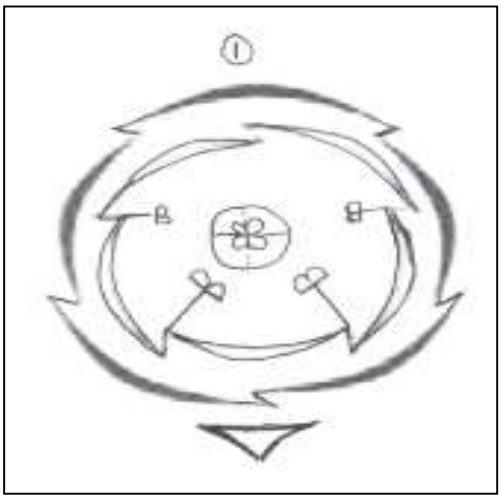


Figure 32 : Diagramme floral de *P.bovei*

La fleur est donc complète, zygomorphe, bisexuée, hétérochlamide, pentamère, pentacyclique, anisomère, respecte la loi d'alternance.

2.2.2 Etude histoanatomique

2.2.2.1 Anatomie de la racine

La coupe transversale de la racine (Figure 33) présente une section plus ou moins circulaire, la symétrie est de ce fait axiale. L'écorce est moins développée par rapport au cylindre central. La moelle est envahie par un bois hétéroxylé.

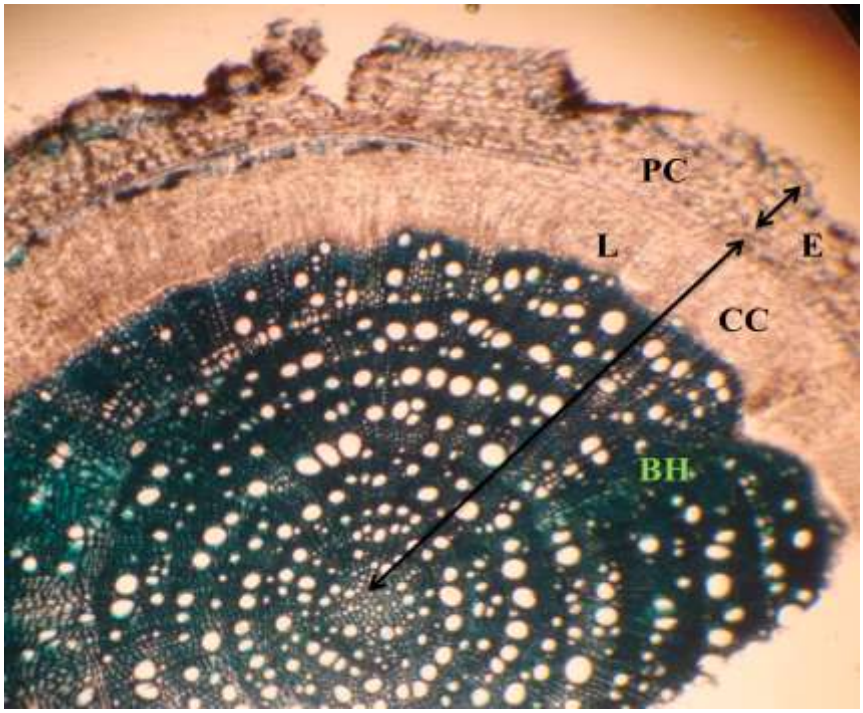


Figure 33 : Coupe transversale d'une racine âgée de *P.bovei*, 3 mm de diamètre, vue générale (G 10× 4).
E : écorce, **CC** : cylindre central, **PC** : parenchyme corticale, **L** : liber, **BH** : bois hétéroxylé

La figure 34 montre un suber, il s'agit d'un tissu de revêtement d'origine secondaire de la racine formé de plusieurs assises de cellules disposées en file radiale. Le suber prend naissance à partir du phellogène qui donne le suber vers l'extérieur et le phelloderme vers l'intérieur, représenté par une assise de cellule aplaties.

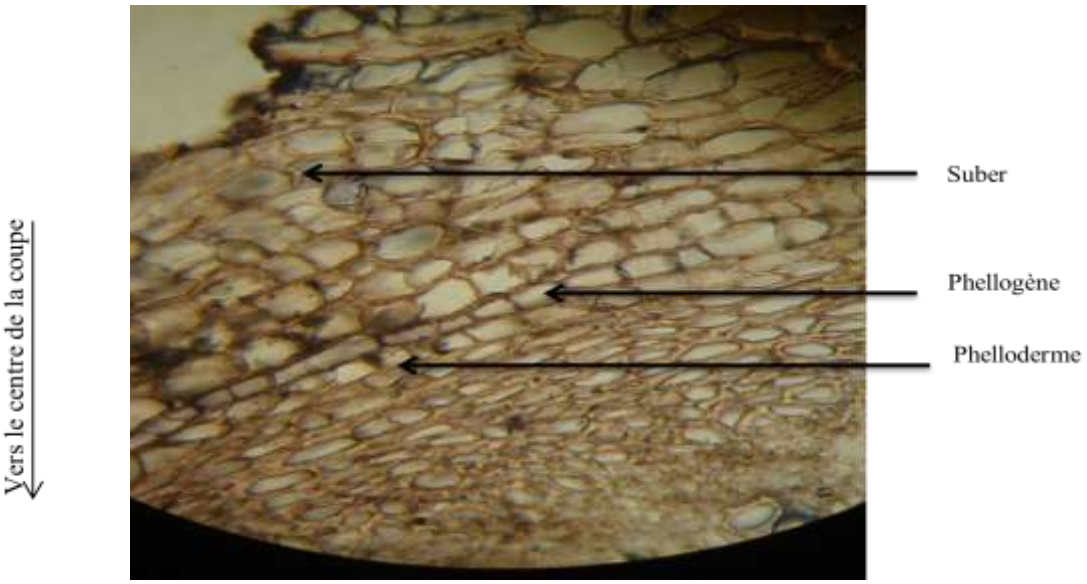


Figure 34 : Coupe transversale d'une racine âgée de *P.bovei*, détail de la zone corticale (G 10 × 40)

La figure 35 montre une zone cambiale qui produit au dessus le liber coloré en rose et en dessous le bois hétéroxylé coloré en vert.

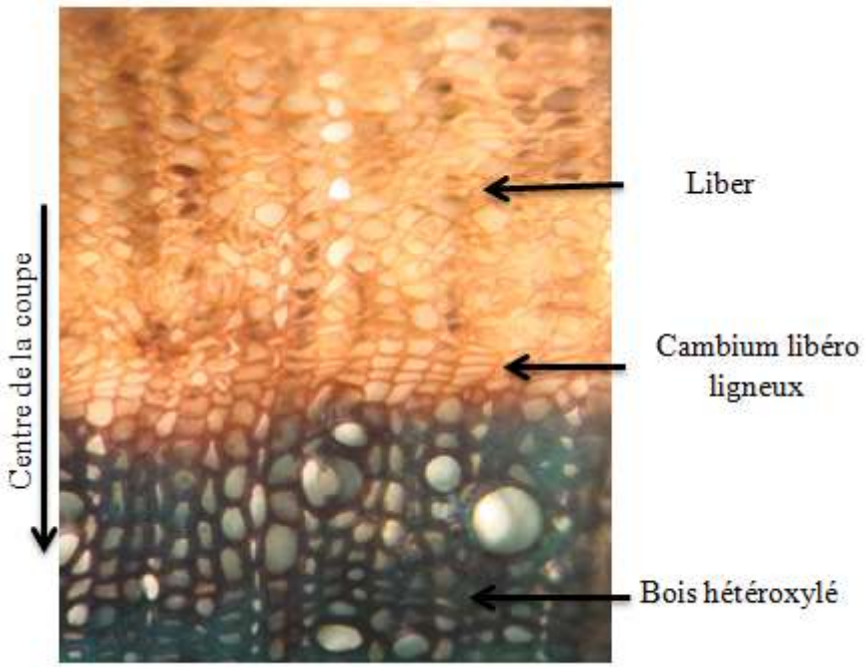


Figure 35 : Coupe transversale d'une racine âgée de *P.bovei*, détail des tissus conducteurs (G 10 × 40)

La figue 36 montre un tissu conducteur de la sève brute : le bois. On observe nettement les éléments suivants : les rayons ligneux, le parenchyme ligneux lignifié horizontale et verticale, le métaxyléme et le protoxyléme.

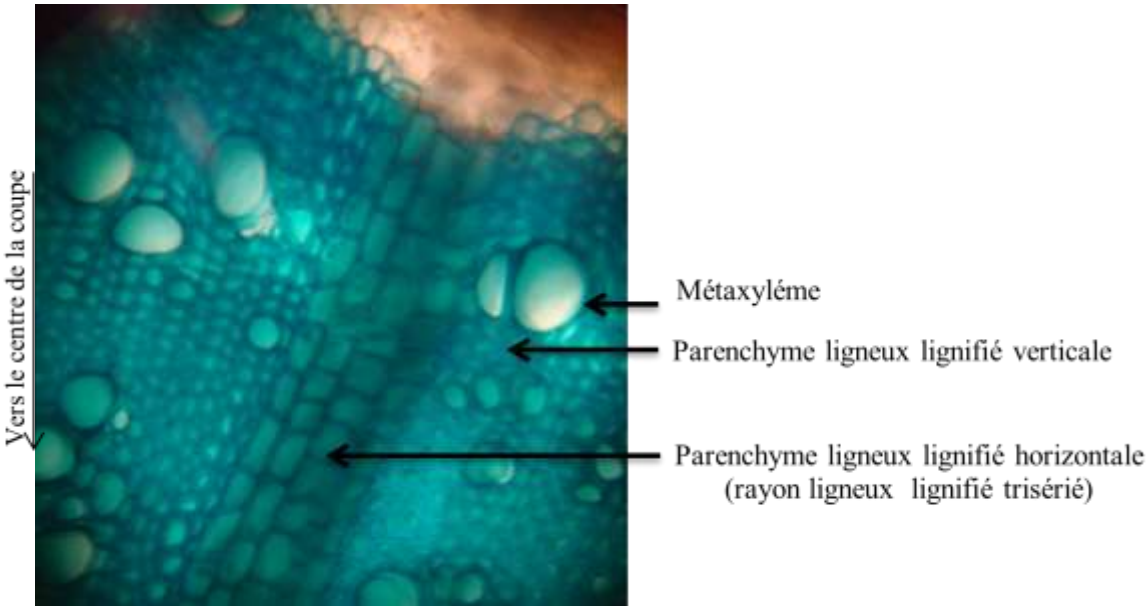


Figure 36 : Coupe transversale d'une racine âgée de *P.bovei*, détail du bois (G 10 × 40)

2.2.2.2 Anatomie de la tige

La coupe transversale de la tige (Figure 37) présente une section plus ou moins carrée, la symétrie est de ce fait axiale. Le cylindre central est plus développé par rapport à l'écorce.

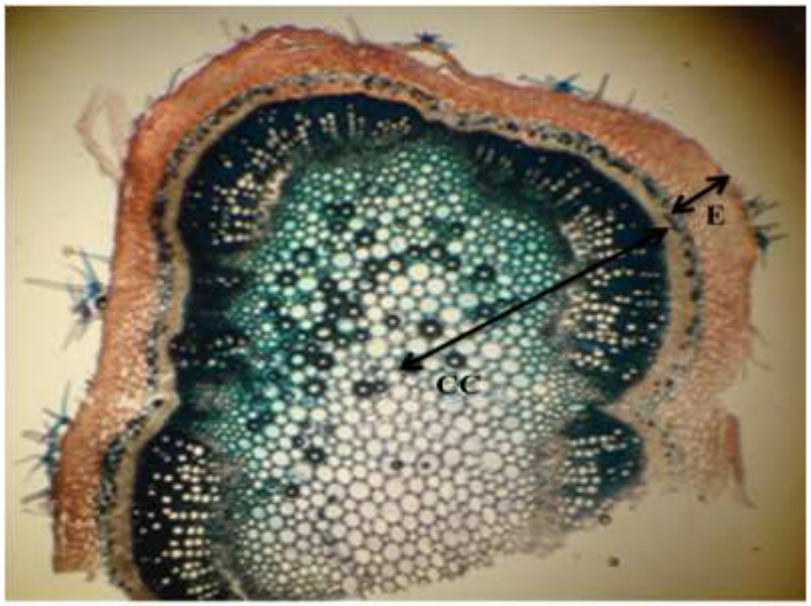


Figure 37 : Coupe transversale de la tige âgée de *P.bovei*, 3 mm de diamètre, vue générale (G 10 × 4). **E** : écorce, **CC** : cylindre central.

L'écorce de la tige (Figure 38) comporte de l'extérieur vers l'intérieur : un épiderme cutinisé, un collenchyme angulaire, un parenchyme cortical à méats.

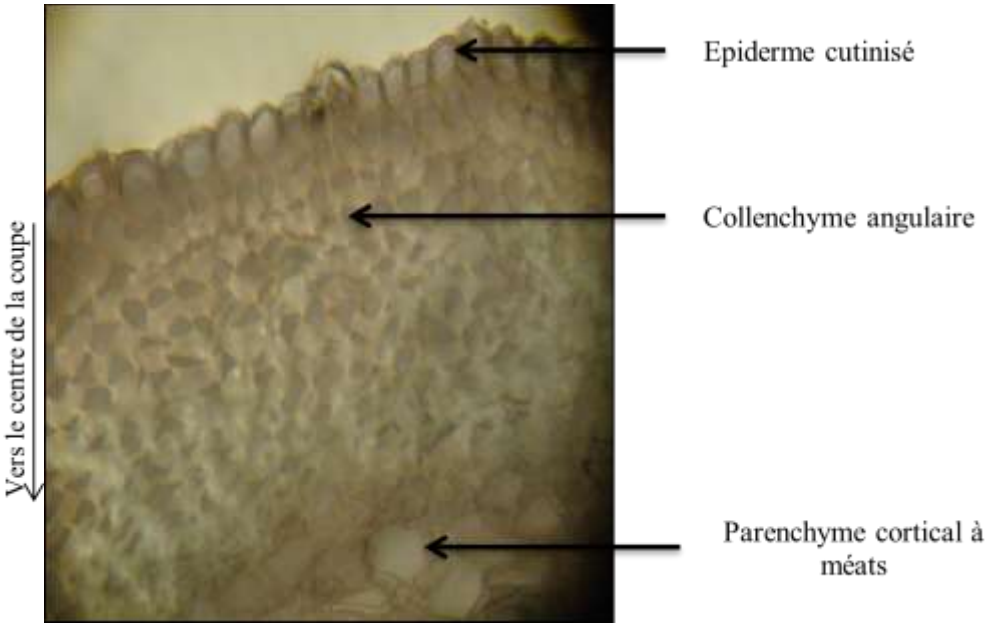


Figure 38 : Coupe transversale d'une tige âgée de *P.bovei*, détail de l'écorce (G25 × 10)

Le cylindre central (Figures 39, 40, 41) est constitué de l'extérieur vers l'intérieur d'un endoderme à cadre, des fibres péri cyclique lignifiées, un liber, et un bois hétéroxylé.

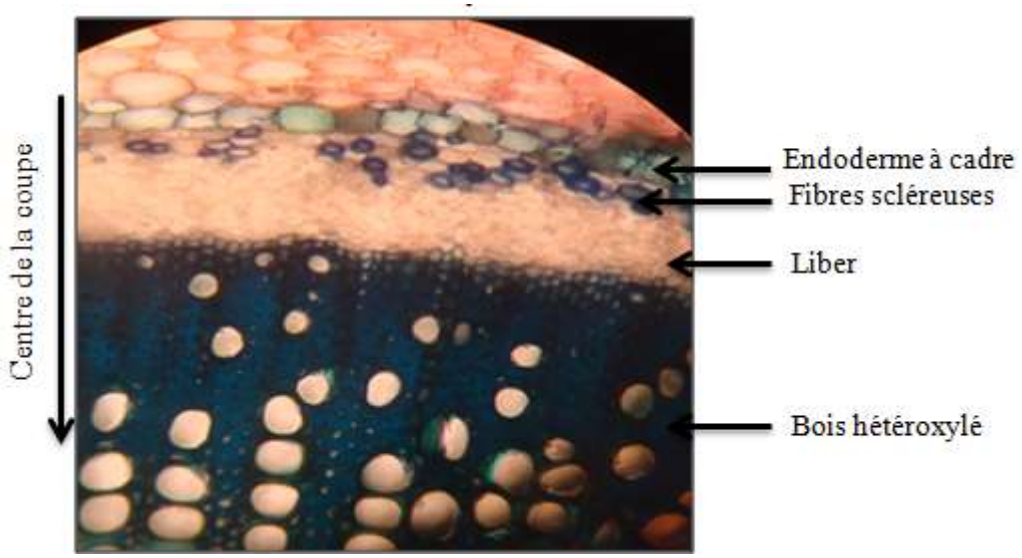


Figure 39 : Coupe transversale d'une tige âgée de *P.bovei*, détail du cylindre central (G 25 × 10)

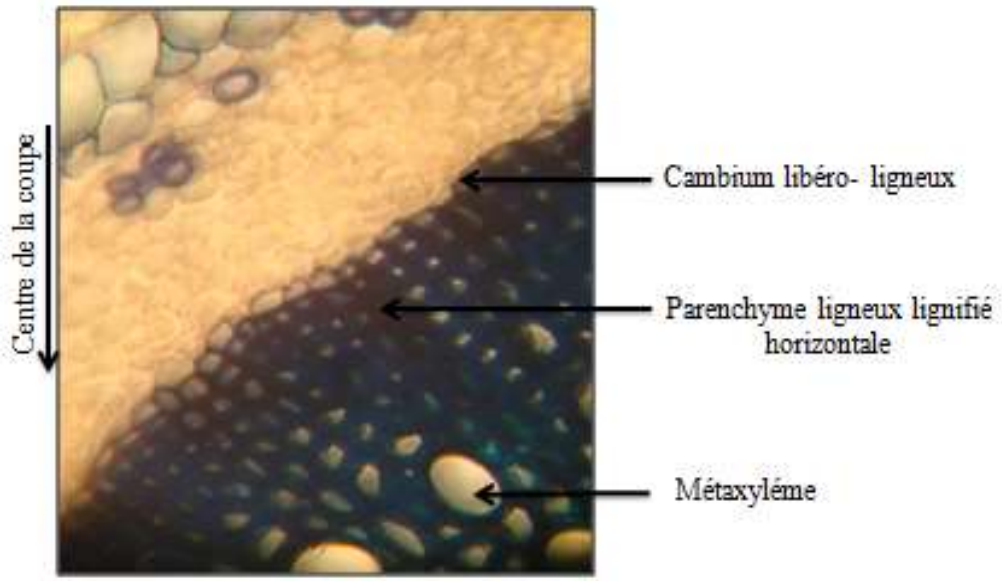


Figure 40 : Coupe transversale d'une tige âgée de *P.bovei*, détail des tissus conducteurs (G 25 × 10)

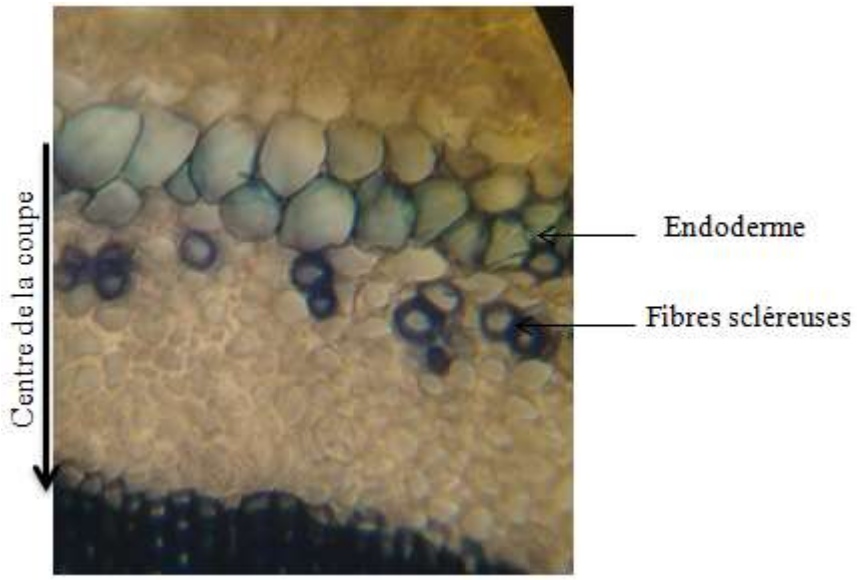


Figure 41: Coupe transversale d'une tige âgée de *P.bovei*, détail de l'endoderme et des fibres scléreuses (G 10 × 25)

Une coupe longitudinale de la tige (Figures 42, 43) montre que l'écorce est plus développée que le cylindre central. La figure 43 montre des vaisseaux spiralés du xylème avec des tours de spires différents, l'un d'eux présente des spires serrées et deux autres avec des spires nettement plus lâches.

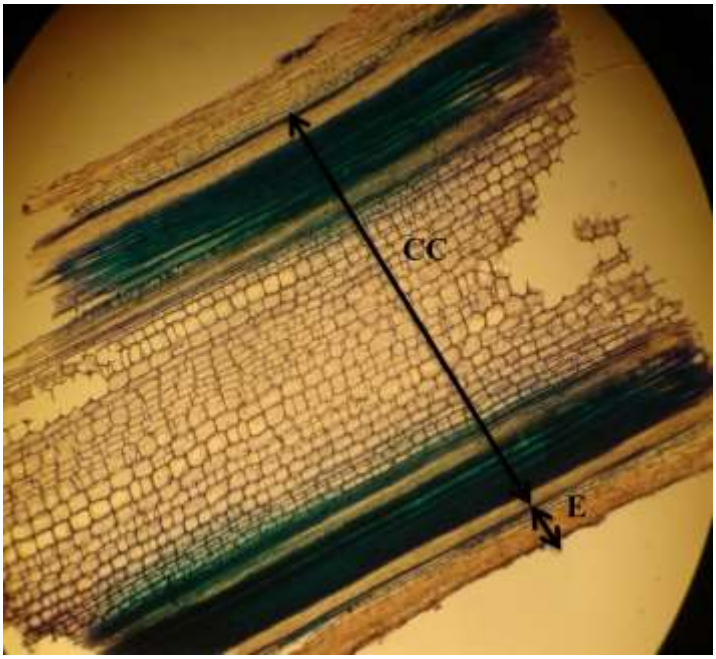


Figure 42: Coupe longitudinale de la tige âgée de *P.bovei*, vue générale (G 10 × 40)
E : écorce, **CC** : cylindre central

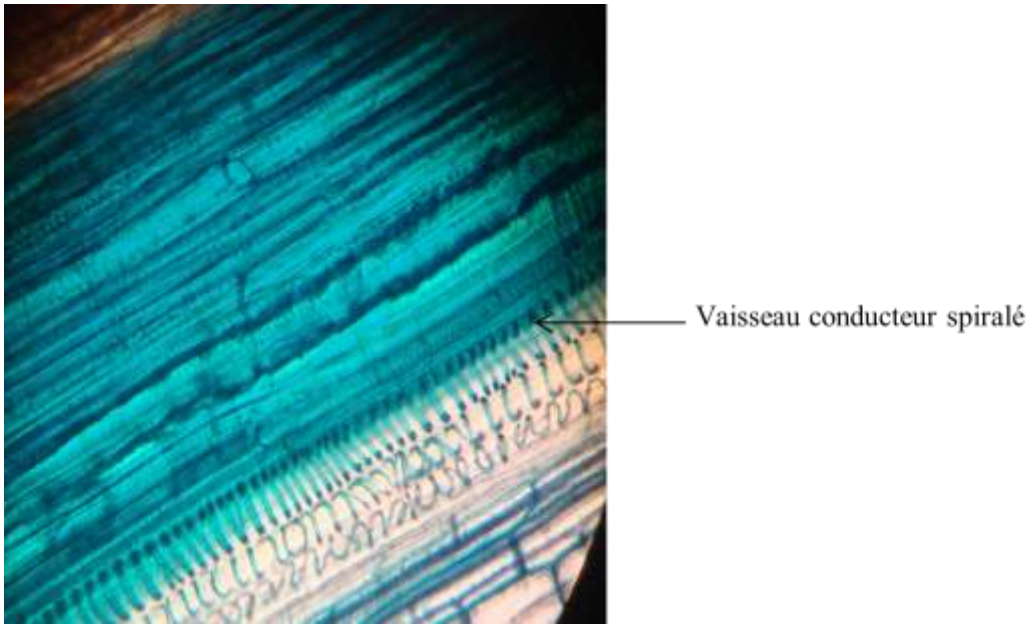


Figure 43: Coupe longitudinale de la tige âgée de *P.bovei* (G×250)

La tige se caractérise par la présence de poils sécréteurs (Figures 44 et 45) dont certaines sont à pied long bicellulaire et tête pluricellulaire et d'autres à pied court unicellulaire et tête pluricellulaire. Des poils tecteurs de diverses formes ont également été observés (Figure 46).



Figure 44: Poil sécréteur à pied long bicellulaire et tête pluricellulaire (G 10 × 40)

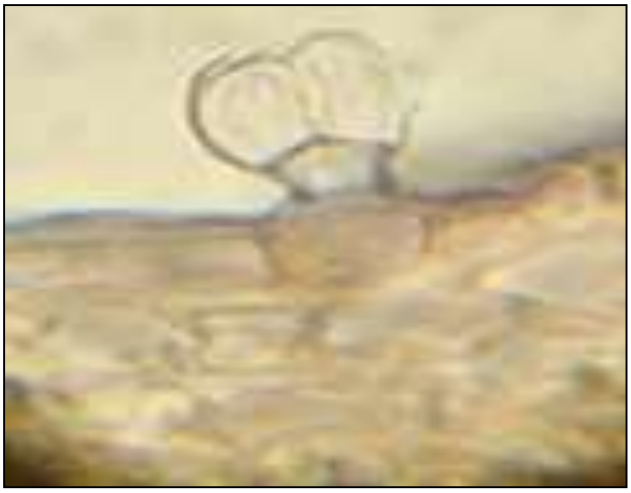


Figure 45: Poil sécréteur à pied court unicellulaire et tête pluricellulaire (G 10 × 40)

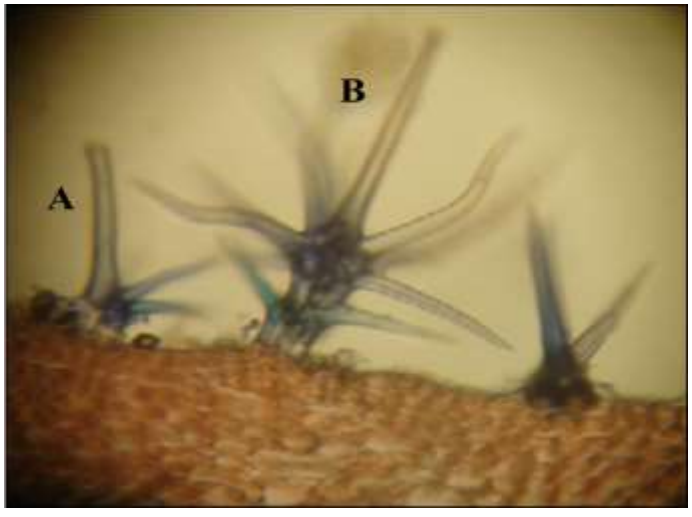


Figure 46: Poils tecteurs : A : poil tecteur étoilé, B : poil tecteur ramifié (G 10 × 40)

2.2.2.3 Anatomie de la feuille

La coupe transversale de la feuille présente une symétrie bilatérale. Elle est constituée d'un limbe et d'une nervure principale.

Le limbe est formé par :

- Un épiderme supérieure cutinisé à stomates pourvu de poils tecteurs étoilés (Figure 47).
- Un tissu médian représenté par le mésophylle hétérogène formé par un parenchyme palissadique vers la face supérieure et un parenchyme à méats vers la face supérieur (Figure 48).
- Un épiderme de la face inferieure cutinisé garni de poils tecteurs et sécréteurs de formes diverses (Figure 49).

Le limbe est parcouru par plusieurs nervures secondaires.

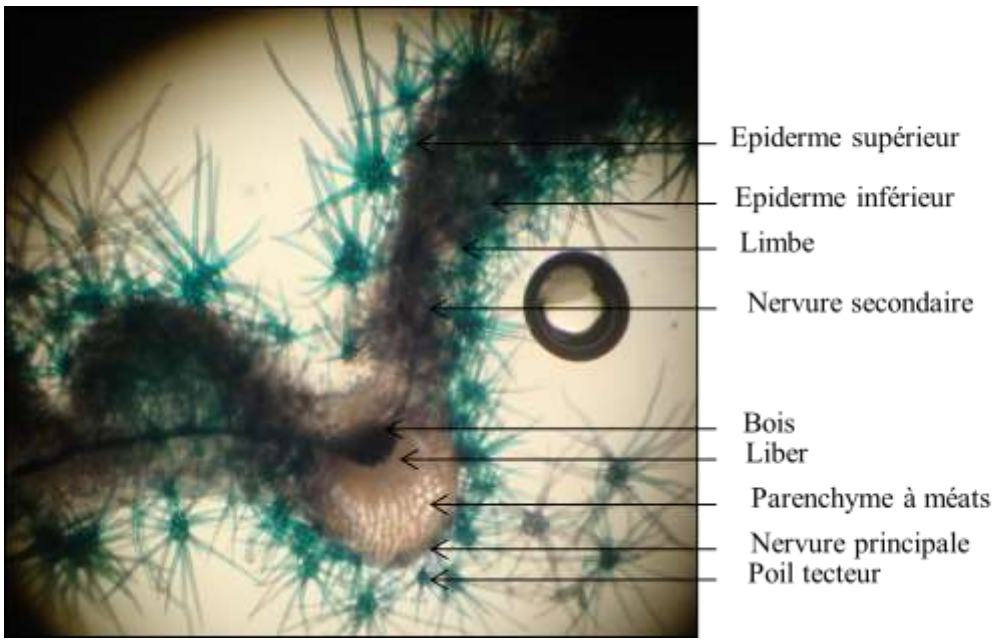


Figure 47 : Coupe transversale de la feuille, vue générale (G 10 × 40)

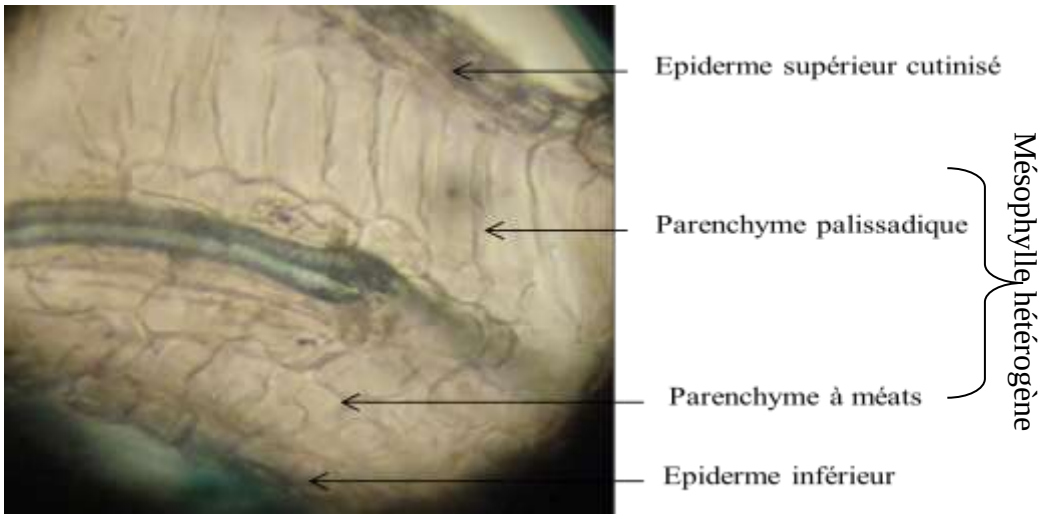


Figure 48 : Limbe de la feuille (G 10 ×40)



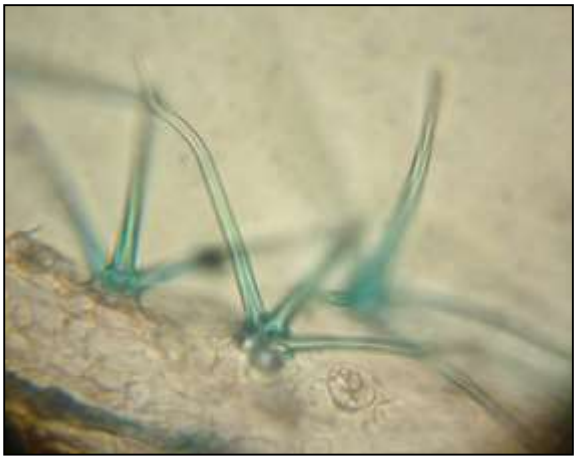
A : Poil sécréteur à pied ramifié et tête unicellulaire (G 10×40)



B : Poil sécréteur à pied bicellulaire et tête bicellulaire (G 10×40)



C : Poil sécréteur à pied unicellulaire et tête unicellulaire (G 10×40)



D : Poils tecteurs étoilés (G 10×40)

Figure 49: Différents types de poils rencontrés dans la feuille de *P.bovei*

2.2.3 Etude palynologique

La méthode d'EDTMAN (Figure 51), plus longue que la méthode classique de WODEHOUSE (Figure 50). Elle présente l'avantage incontestable de permettre une analyse et une meilleure observation de la paroi pollinique.

A l'état frais, le pollen est de couleur jaune disposés en monades, de forme elliptique, longiaxe étant donné que l'axe polaire est plus grand que l'axe équatorial. Il possède trois apertures en formes de sillons, il est dit tricolpé. L'exine est réticulée. En vue polaire, il apparait avoir une forme sphérique.

Ce résultat concorde avec les travaux réalisés en Jordanie sur le pollen de cinq espèces du genre Phlomis : *P. syriaca* Boiss., *P. herba-venti* subsp. *Pungens* (Willd.) Maire ex DeFilipps , *P. platystegia* Post, *P. brachyodon* (Boiss.) Zohary ex Rech.f., *P. kurdica* Rech.f. et *P. viscosa* Poir. **(Oran, 2015)**, ainsi qu'avec les travaux de Firdous et collaborateurs en 2015 qui ont analysé le pollen de deux espèces du genre Phlomis : *P. bracteosa* Royle ex Benth. Et *P. spectabilis* Falc. Ex Benth. Le pollen des deux espèces étudiées est tricolpé réticulés, de formes sphériques (*P. bracteosa* Royle ex Benth.) ou elliptiques (*P. spectabilis* Falc. Ex Benth) **(Firdous et al., 2015)**.

Le pollen de la famille des Lamiaceae, présente souvent une exine d'architecture réticulée ce qui confirme le résultat retrouvé. Le type et le nombre d'apertures sont indispensable dans l'identification d'une espèce, dans le sens où ils permettent parfois de distinguer entre les familles étroitement apparentées tel que la famille des Lamiaceae et les Verbenaceae, ces dernières se caractérisent par des pollens tricoloporés.

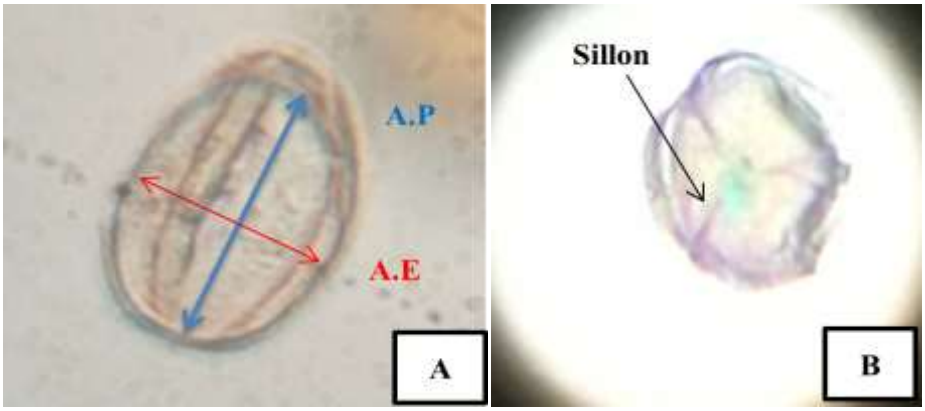


Figure 50 : Grains de pollens de *P.bovei* obtenus selon la méthode WODEHOUSE (G10× 100) observés sous microscope photonique
A : Vue équatoriale (AP : axe polaire, AE : axe équatorial), B : Vue polaire



Figure 51 : Grains de pollens de *P.bovei* obtenus selon la méthode d'EDTMAN observés sous microscope photonique (G10× 100)
A : Vue équatoriale, B : Vue polaire

2.2.4 Etude de la poudre

2.2.4.1 Etude de la poudre de la feuille

L'analyse de la poudre de la feuille a permis de détecter la présence des éléments suivants :

- Poils tecteurs : simple unicellulaire, étoilé, ramifié (Figure 52 A, B, C).
- Poils sécréteurs de différentes formes : poil sécréteur à pied ramifié et tête unicellulaire, poil sécréteur à pied unicellulaire et tête unicellulaire (Figure 52 D, E).
- Stomate (Figure 52 F).
- Vaisseau spiralé (Figure 52 G).



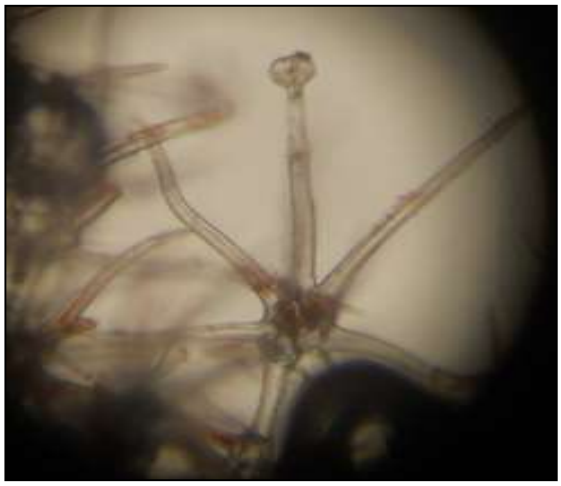
A : Poil tecteur simple unicellulaire (G 10×100)



B : Poil tecteur étoilé (G 10×100)



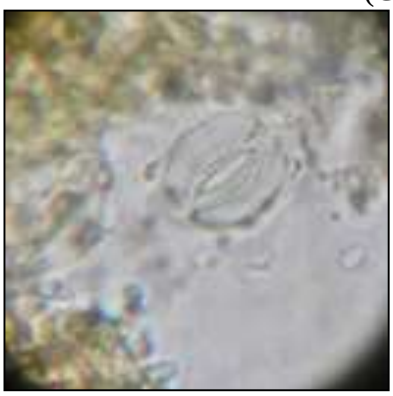
C : Poil tecteur ramifié (G 10×100)



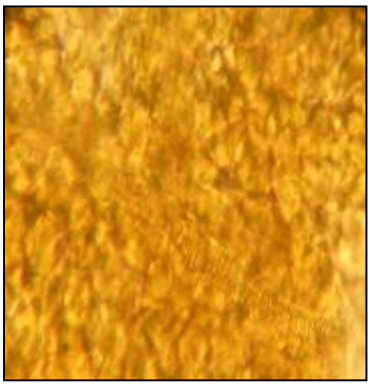
D : Poil sécréteur à pied ramifié et tête unicellulaire (G 10×100)



E : Poil sécréteur à pied unicellulaire et tète unicellulaire (G 10×100)



F : Stomate (G 10×100)



G : Vaisseau spiralé (G 10×100)

Figure 52 : Eléments caractéristiques de la poudre de feuille de *P.bovei*



A : Poil tecteur simple unicellulaire (G 10×100)



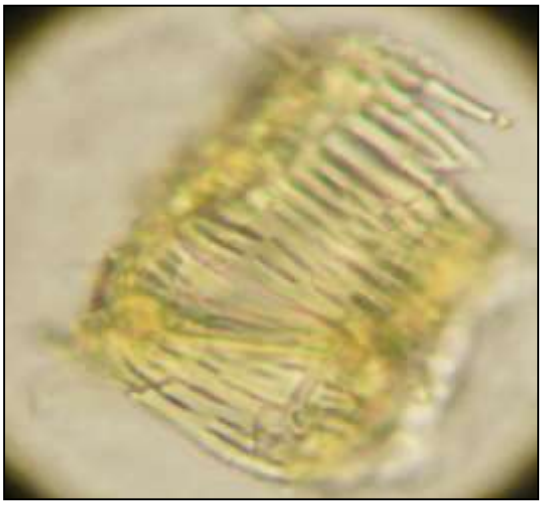
B : Poil tecteur étoilé (G10×100)



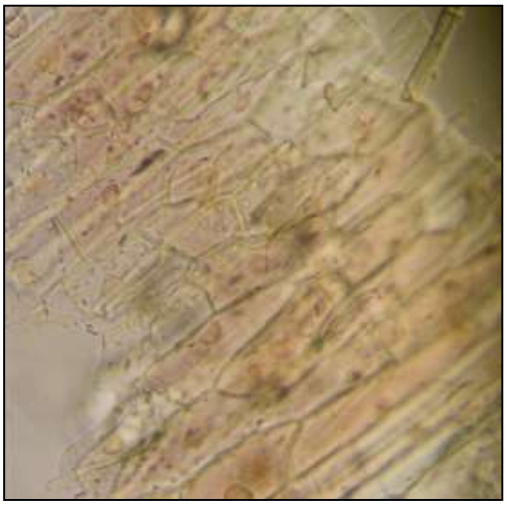
C : Vaisseaux spiralés avec des spires serrées (G× 100)



D : Vaisseaux spiralés avec des spires lâches (G×100)



E : Vaisseau réticulé (G 10× 100)



F : Reste d'un parenchyme (G10× 100)

Figure 53 : Eléments caractéristiques de la poudre de tige de *P.bovei*

2.2.4.2 Etude de la poudre de la tige

L'analyse de la poudre de la tige après traitement par le réactif de Gazet du Chatelier a permis de détecter la présence des éléments suivants :

- Poils tecteurs : simples unicellulaires, étoilés (Figue 53 A, B).
- Vaisseau spiralé du xylème avec des tours de spires serrées ou nettement plus lâches (Figure 53 C, D).
- Vaisseau réticulé (Figure 53 E).
- Reste d'un parenchyme (Figure 53 F).

2.3 Conclusion de l'étude botanique

L'étude des caractères botaniques, anatomiques et palynologiques des deux échantillons **A** et **B** nous ont permis d'identifier l'espèce comme suit :

- Plante à fleurs pentamères avec des structures secondaires et pollen triapertué : **Angiospermes, dicotylédone**
- Plantes à feuilles opposées. Fleurs fortement zygomorphes, bilabiées : **Ordre des Lamiales**
- Tige quadrangulaire, pourvus de poils tecteurs et de poils sécréteurs de formes différentes. Plante aromatique, inflorescence en glomérule, corolle bilabié, androcée didyname, style gynobasique, fruit tétrakéne : **Lamiacées**
- Corolle grande (2-3 cm) à lèvre supérieure fortement recourbée en forme de casque. Etamines supérieures à filet adhérent presque sur toute sa longueur au tube de la corolle. : **Phlomis.**
- Herbes vivaces à tiges puissantes d'environ 70 cm, peu rameuses. Feuilles inférieures cordiformes à la base, alors que les feuilles supérieures sont lancéolées pétiolées. Calice à dents triangulaires courtes égalant le 1/8 de la longueur du tube : ***Phlomis bovei* de Noé.** La plante ainsi identifiée est conforme à la description présente dans la littérature **(Quézel et Santa, 1963).**

Chapitre 3 : Etude phytochimique du *Phlomis bovei* de Noé

3.1 Matériels et méthodes

3.1.1 Etude phytochimique préliminaire

Une recherche qualitative basée sur des réactions colorimétriques a été menée sur les feuilles et les racines du *P.bovei* pour mettre en évidence les classes principales de métabolites secondaires.

3.1.1.1 Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, basiques, donnant des réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (réactif de Mayer, de Bouchardat et de Dragendorff), en se combinant avec les métaux et les métalloïdes tels que l'iode, le bismuth, le mercure et le tungstène.

Faites macérer 1g de poudre végétale dans 30 ml de solution d'acide chlorhydrique HCl à 1% pendant 24 H à température ambiante. Le macéré est par la suite filtré et réparti en trois verres à montre. Ajoutez quelques gouttes de réactif de Mayer, de Bouchardat et de Dragendorff **(Ningsih, 2017, María et al., 2018).**

La présence des alcaloïdes est mise en évidence par l'apparition d'un précipité blanc avec le réactif de Mayer, brun avec le réactif de Bouchardat et rouge-orangé avec le réactif de Dragendorff.

3.1.1.2 Recherche des flavonoïdes

Ce sont des composés polyphénoliques universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles.

Faites extraire 1g de poudre avec 20 ml d'éthanol 90%. Portez l'ensemble à 65°C pendant 15 min. Au filtrat obtenu, ajoutez 1 ml d'eau distillée, 1 ml HCl concentré et des copeaux de magnésium. Il s'agit de *la réaction à la cyanidine* **(Samejo et al., 2013, Amponsah, 2014).**

L'apparition d'une coloration :

- Orange indique la présence des flavones.
- Rouge violacé indique la présence des flavonols.
- Rouge cerise indique la présence des flavanones

La réaction étant négative avec les chalcones et les isoflavones.

3.1.1.3 Recherche des tanins

Ce sont des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénoliques très variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est à dire de la rendre

imputrescible. Ce pouvoir dit astringent explique les propriétés cicatrisantes, vasculoprotectrices et anti-diarrhéiques de certaines plantes **(Hennebelle et al., 2004).**

Les tanins sont repartis en deux classes : les tanins hydrolysables (acide gallique, acide ellagiques) et les tanins condensés ou tanins catéchiques.

Le test est réalisé sur un infusé à 5%. La mise en évidence des tanins est réalisée par l'ajout dans un tube à essai 5 ml de l'infusé, et 1 ml de $FeCl_3$ (Chlorure ferrique) à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre **(Iqbal et al., 2015).**

La distinction entre les tanins galliques et catéchiques est faite par ajout du réactif de Stiasny avec lequel seuls les tanins catéchiques sont précipités **(Bekro, 2018).**

3.1.1.4 Recherche des saponosides

Ils constituent un groupe vaste d'hétérosides à propriétés tensioactives très répandus chez les végétaux. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes **(Bruneton, 2016).**

Ajoutez 1g de poudre dans un Erlenmeyer contenant 100 ml d'eau distillée. Placez le mélange au bain marie à 90°C pendant 30 min. Filtrez le décocté obtenu. Selon la pharmacopée européenne 10.0, la présence des saponosides est déterminée quantitativement par le calcul de « l'indice de mousse » ; degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées **(Belfekih, 2017).**

Dans une série de 11 tubes à essais, le protocole mentionné dans le tableau 24 a été suivi.

Tableau 24: Gamme des dilutions du décocté pour la mesure de l'indice de mousse.

Numéro du tube	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
Décocté (ml)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Eau (ml)	10	9.5	9	8.5	8	7.5	7	6.5	6	5.5	5
Volume total (ml)	10 ml										

Chaque tube est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, la hauteur de la mousse persistante en cm est notée.

La hauteur de la mousse permet de calculer l'indice de mousse (IM) comme suit :

$$IM=1000 /N$$

N : représente le numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1 cm.

Un indice de mousse supérieur à 100 indique la présence des saponosides.

3.1.1.5 Recherche des anthracénosides

Les dérivés hydroxyanthracéniques ou les anthracénosides sont des composés phénoliques hétérosidiques dérivant de l'anthracène à degré d'oxydation variable (anthrone, anthranol et anthraquinone) doués de propriétés laxatives à faible dose et purgatives à dose élevée **(Bruneton, 2016).**

Ajoutez 5 ml de solution de H_2SO_4 (Acide sulfurique) à 10% à 1 g de poudre. Après un chauffage au bain marie à 100°C pendant 2 min, la solution est filtrée. Ajoutez un volume égal de chloroforme ($CHCl_3$), agitez le tout puis laissez reposer 5 min. A la phase chloroformique inférieure, un volume égal de d'ammoniaque (NH_4OH) à 10% est introduit.

Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'anthracénosides. C'est la réaction de *Borntrager* **(Joshi et al., 2013)**.

3.1.1.6 Recherche des hétérosides cardiotoniques

Ajoutez 1 g de poudre à 10 ml d'eau distillée. Mettez la solution dans un tube à essai additionnée de 2 ml d'acide acétique glacial et quelques gouttes de $FeCl_3$ 1%. L'ajout de 1 ml de H_2SO_4 pure à la périphérie du tube entraine la formation d'un anneau brun entre les deux solvants ce qui indique la présence des hétérosides cardiotoniques. Il s'agit de la réaction de *killer Killiani* **(Iqbal et al., 2015).**

3.1.1.7 Recherche des mucilages

Ce sont des macromolécules osidiques qui se dissolvent dans l'eau donnant des solutions d'hydrocolloïdes. Ajoutez 5 ml d'éthanol absolu à 1 ml d'un décocté à 10 %. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages **(Belfekih, 2017).**

3.1.1.8 Recherche des coumarines

Ce sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-inflammatoire, antioxydante, anticoagulante, antitumorale, antimicrobienne, analgésique et immunomodulatrice **(Wu et al., 2009).**

Faire macérer 1g de poudre pendant 24 H dans 20 ml d'éther. Dans une capsule, après avoir évaporé 5 ml de l'extrait, ajoutez 2 ml d'eau chaude au résidu. La solution est mise dans des tubes à essais puis ajoutez 0,5 ml de NH_4OH à 25%. Une fluorescence intense bleu verdâtre ou violette sous la lumière UV à 366 nm indique la présence des coumarines **(Belfekih, 2017).**

3.1.1.9 Recherche des terpènes et stéroïdes

Faites dissoudre 2 mg d'extrait sec dans de l'anhydride acétique, portez le à ébullition. Laissez refroidir, puis ajoutez 1 ml d'H_2SO_4 concentré le long des parois du tube à essai. Un anneau de couleur marron qui se forme à la jonction de deux couches et la couche supérieure

qui devient verte, indique la présence de stéroïdes. L'apparition d'une couleur rouge foncé indique la présence de triterpénoïdes. Il s'agit de la réaction de *Libermann- Burchard* **(Joshi et al., 2013).**

3.1.2 Dosage des Polyphénols, des flavonoïdes et des tanins

Des dosages semiquantitatifs à l'aide d'un spectrophotomètre UV/ Vis (*Varian Cary 50 Bio,* USA) ont été réalisés sur les différents extraits de feuilles des deux échantillons **A** et **B** dans le but de sélectionner d'une part l'extrait le plus riche pour évaluer son activité cicatrisante et d'autre part de comparer les teneurs par rapport aux autres espèces de *Phlomis.*

3.1.2.1 Extraction

Les polyphénols, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte.

Les feuilles des deux échantillons **A** (25 g) et **B** (40 g) ont été extraites avec différents solvants à polarité croissante : acétate d'éthyle, éthanol et eau et un quatrième solvant hydroalcoolique EtOH-H_2O (75:35) **(Pertuit et al., 2017).** Les échantillons ont subit un épuisement par macération durant 48H suivi d'un bain ultrason. Une quantité équivalente du résidu obtenue des deux échantillons (1 g) a été solubilisée dans 10 ml de méthanol.

Lors de l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises en considération afin de protéger l'intégrité de la plante ainsi que ses réserves en métabolites secondaires en particulier les polyphénols qui sont particulièrement sensibles surtout à la lumière. De ce fait, chaque tube d'extraction a été conservé à l'abri de la lumière.

3.1.2.2 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode décrite par Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu **(Singleton et Rossi, 1965, Oscar et al., 2020)**, une méthode couramment utilisée principalement pour sa simplicité et sa sensibilité satisfaisante.

3.1.2.2.1 Principe de la méthode

La teneur en composés phénoliques est déterminée par le test de Folin-Ciocalteu à 765 nm. Le principe repose sur la réduction des réactifs acides phosphotungstique et phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline. L'apparition d'une coloration bleu est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans l'extrait analysé.

La concentration des composés phénoliques des feuilles de *P.bovei* est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec un étalon standard : acide gallique (AG), préparée à partir d'une solution mère **(Jovanović et al., 2017).**

3.1.2.2.2 Mode opératoire :

Ajoutez à 250 µl de chaque extrait, 0,125 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10. Après 3 min, 750 µl d'une solution de carbonate du sodium (1%) sont ajoutés.
L'absorbance est mesurée à 760 nm après 2h d'incubation **(Zengin et al., 2014, El Atki et al., 2019).**

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir des droites d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme : Abs= a× [AG] + b
« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite. Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 mg/l de la gamme. Une gamme étalon en milieu aqueux (six points de concentration de 0 à 80 mg/l) est établie avec un polyphénol témoin de l'acide gallique dans les mêmes conditions (250 µl d'acide gallique à différentes concentrations : 0-10-20-40-60-80 mg/l) (Tableau 25).

Tableau 25 : Gamme étalon de l'acide gallique

Concentration (mg/l)	**0**	**10**	**20**	**40**	**60**	**80**
Solution mère (80 mg/l)	0	1,25	2,5	5	7,5	10
Eau (ml)	10	8,75	7,5	5	2,5	0
Volume final (ml)	10 ml					

3.1.2.3 Dosage des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différentes fractions est réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) **(Amezouar et al., 2013)**. Ajoutez à 1 ml de chaque extrait, 1 ml de solution d'$AlCl_3$ à 2 % dans le méthanol (MeOH)**.** Après 10 min du début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm **(Falleh et al., 2008, Muniyandi et al., 2019, Dirar et al., 2019).**

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir de la droite d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence, de la forme : Abs = a × [Rutine] + b
Une gamme étalon est établie séparément avec la rutine (0-80 µg/ml) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont exprimés en milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait sec (mg ER/g ES) et sont rapportés dans le tableau 26.

Tableau 26 : Gamme étalon de la rutine

Concentration (mg/l)	**0**	**10**	**20**	**40**	**60**	**80**
Solution mère (80 mg/l)	0	1,25	2,5	5	7,5	10
Eau (ml)	10	8,75	7,5	5	2,5	0
Volume final (ml)	10					

3.1.2.4 Dosage des Tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode à la vanilline **(Heimler et al., 2006, Zengin et al., 2014)**. Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 550 nm.

Ajoutez à 50 µl de chaque extrait, 1,5 ml d'une solution méthanolique de vanilline à 4% et 750 µl d'acide hydrochlorique concentré (HCL). Laissez réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-80 µg/ml) (Tableau 27), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (µg ECAT/g Es).

Tableau 27 : Gamme étalon de la catéchine

Concentration (mg/l)	**0**	**10**	**20**	**40**	**60**	**80**
Solution mère (80 mg/l)	0	1,25	2,5	5	7,5	10
Eau (ml)	10	8,75	7,5	5	2,5	0
Volume final (ml)	10					

3.1.3 Phytochimie extractive et structurale

3.1.3.1 Extraction

3.1.3.1.1 Préparation des extraits secs de feuilles

L'extraction a été réalisée selon deux méthodes :

- Extraction par bain ultrason
- Extraction par microonde

Dans les deux cas de figures, 20 g de feuilles sèches ont été dégraissées trois fois avec 220 ml d'éther de pétrole pendant 30 min puis extraites avec 330 ml du mélange EtOH-H_2O (75:35). Chaque extraction a été répétée trois fois avec les mêmes marcs jusqu'à épuisement.

L'extraction au microonde a été réalisée pendant 1H à 60°C et celle par bain ultrason pendant 1H à température ambiante. Les extraits ont été évaporés à sec sous pression réduite à 50°C.

3.1.3.1.1 Préparation des extraits secs de racines

De la même manière que les feuilles, 50 g de racines ont été extraites avec 220 ml du mélange EtOH-H2O (75:35).

Le résidu obtenu des feuilles et des racines a été soumis à une succession de différentes techniques chromatographiques. Initialement, le fractionnement été réalisé par chromatographie liquide sous vide (VLC sur silice 60 en phase normale et en phase inverse RP18), la chromatographie d'exclusion sur gel Sephadex LH-20 et la chromatographie flash. Dans une deuxième étape, on a eu recours à la chromatographie liquide à moyenne pression (MPLC sur silice 60 en phase normale et en phase inverse RP18). Les différentes étapes de purifications sont représentées de façon synthétique dans les figures 54 et 55.

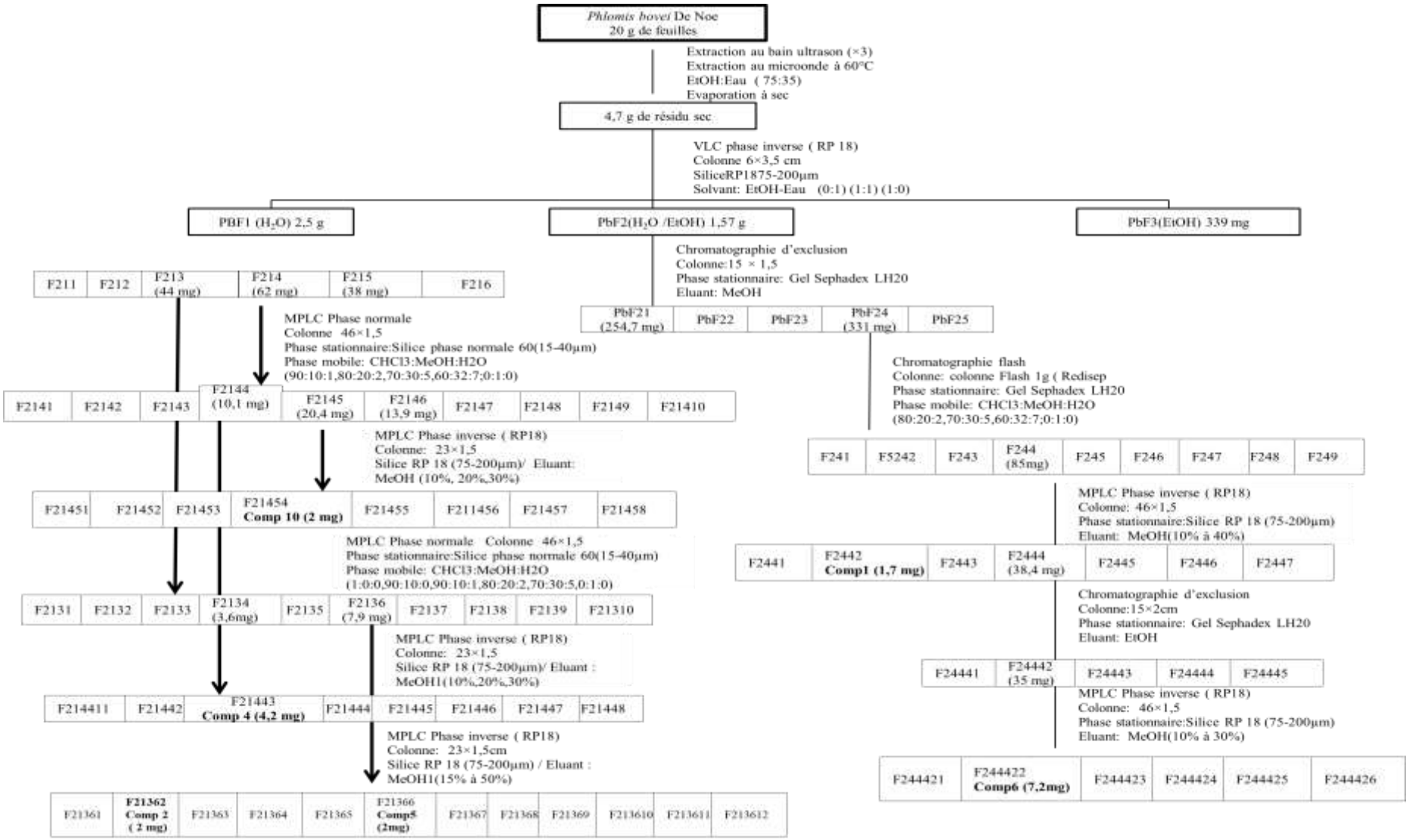


Figure 54: Schéma d'extraction, de purification et d'isolement des composés purs à partir des feuilles de *P.bovei*

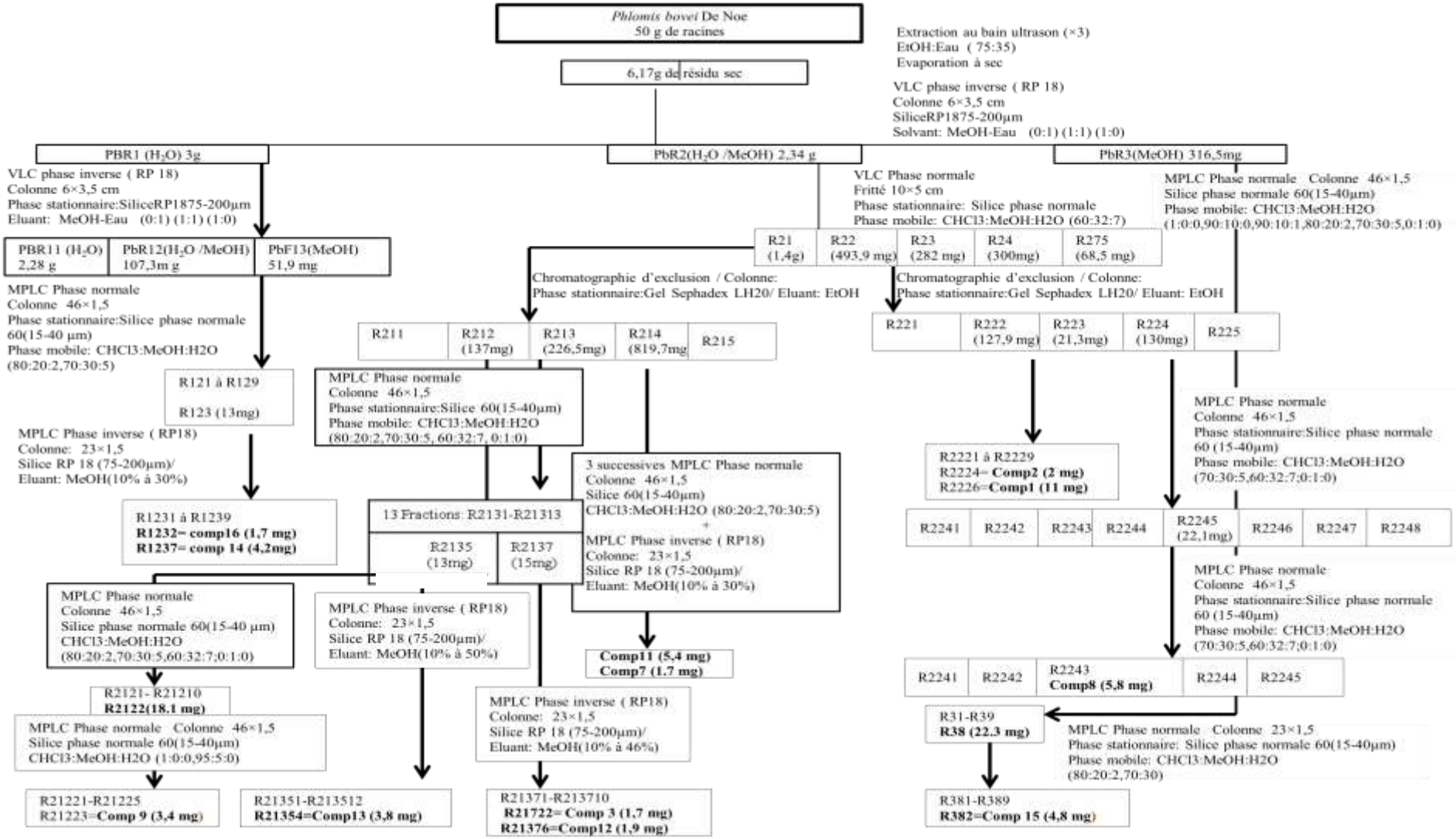


Figure 55: Schéma d'extraction, de purification et d'isolement des composés purs à partir des racines de *P.bovei*

3.1.3.2 Méthodes chromatographiques analytiques

3.1.3.2.1 Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince CCM ou TLC pour thin-layer chromatography est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire (couche mince de matériel absorbant, usuellement du gel de silice sur un support inerte), et une autre mobile.

3.1.3.2.1.1 Conditions chromatographiques

A- Plaques utilisés

Plaque de silice CCM (60 F254, 20×20 cm, Silicycle) : ces plaques ont été utilisées pour les extraits bruts et leurs fractions.

Plaque de silice HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) silica gel 60 F 254,10×10 cm, Merck : les composés isolés ont fait l'objet d'un contrôle de pureté avec des plaques CCM haute performance (HPTLC).

B- Eluant

Plusieurs systèmes de migration ont été utilisés, du plus apolaire au polaire :

- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 95:5:0
- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 90:10:0
- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 80:20 :2
- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 70:30:5
- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 60:32:7
- $CHCl_3$-MeOH-H_2O, 64:40:8

Les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 366 nm avant révélation

C- Révélation

La révélation des plaques a été réalisée avec de la vanilline sulfurique : constituée d'un mélange d'une solution A (Vanilline à 1% dans l'éthanol) et d'une solution B (H_2SO_4) à un rapport de 50: 1 respectivement

3.1.3.3 Méthodes chromatographiques préparatoires

3.1.3.3.1 Chromatographie d'exclusion moléculaire

Le principe de la chromatographie d'exclusion, appelée aussi filtration sur gel ou tamisage moléculaire repose en première approximation sur la masse molaire des molécules à séparer mais également sur leurs structures spatiales.

La phase stationnaire est constituée de billes de polysaccharides (du type "Sephadex") gonflées dans le solvant utilisé pour l'élution. Ces billes de "Sephadex" sont constituées d'un dérivé du dextran formé de chaînes de glucose liées par des liaisons osidiques 1-6.

Les molécules dont le volume est supérieur à celui des billes ne peuvent y pénétrer et sont éluées rapidement, en revanche, les molécules dont le volume est inférieur à celui des billes y pénètrent et y subissent des frottements qui les retardent.

Conditions chromatographiques :

- Phase stationnaire : Sephadex LH-20, *Pharmacia Fine Chemical*s
- Phase mobile : MeOH ou EtOH

3.3.3.3.2 Chromatographie liquide sous vide (VLC)

C'est une technique rapide utilisée pour obtenir un fractionnement grossier de l'extrait brut. Son usage précède les autres techniques de séparations plus pointues telles que la MPLC. Les fractionnements ont été effectués dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté de porosité fixe. La dimension du filtre dépend du poids de l'extrait.

3.3.3.3.2.1 Conditions chromatographiques de la VLC en phase normale

Phase stationnaire : le gel de silice 60 en phase normale (Merck, 63-200µm).

Phase mobile : dans ce cas l'éluant utilisé est un gradient de solvant $CHCl_3$-MeOH-H_2O (100:0:0, 95:5:0, 90:10:0, 90:10:1, 80:20 :2, 70:30:5, 60:32:7). Le but est d'obtenir des fractions de différentes polarités, de l'apolaire au plus polaire, et aussi d'éliminer les tanins qui au regard de leur taille qui ne passent pas à travers le gel de silice.

3.3.3.3.2.2 Conditions chromatographiques de la VLC en phase inverse

Phase stationnaire : le gel de silice en phase inverse RP18 (Silicycle, 75-200µm).

Phase mobile : le solvant de migration utilisé est formé par un gradient de MeOH-H_2O (0:1, 1:1, 1:0), ceci permet d'éliminer principalement les sucres qui passent dans la phase aqueuse.

3.1.3.3.3 Chromatographie flash

Ce procédé permet de réaliser des séparations et purifications de façon automatisée, ce qui apporte à l'utilisateur un gain de temps, une économie de solvant et une meilleure reproductibilité.

3.1.3.3.3.1 Conditions chromatographiques :

- Matériel : CombiFlash RETRIEVE, USA
- Phase stationnaire : Silice en phase normale (colonne de gel de silice, 15-40 µm, 12 g, Redisep).
- Phase mobile : Gradient de solvant $CHCl_3$-MeOH-H_2O (95:5:0, 90:10:0, 90:10:1, 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7).

3.1.3.3.4 Chromatographie liquide moyenne pression (MPLC)

Cette technique de séparation permet de fractionner et purifier en une ou à plusieurs reprises les composants d'un mélange. Selon la phase stationnaire, nous avons utilisé deux types d'MPLC.

3.1.3.3.4.1 MPLC en phase normale

3.1.3.3.4.1.1 Matériel

Colonne de séparation à silice de marque *Buchi* de différentes tailles : 23 × 1,5 cm, 46 ×1,5 cm, France

Pompe : Gilson modèle 303, USA

Module manométrique : Gilson modèle 802C, USA

Collecteur de fractions : Pharmacia Biotech SuperFrac, Suède.

Phase stationnaire : gel de silice 60 en phase normale (Merck, 15-40 µm)

Phase mobile: $CHCl_3$-MeOH-H_2O (100:0:0, 95:5:0, 90:10:0, 90:10:1; 80:20:2; 70:30:5; 60:32:7; 0:100:0).

3.1.3.3.4.2 MPLC en phase inverse RP18

3.1.3.3.4.2.1 Matériel

Colonnes de marque Buchi de différentes longueurs 46×1,5 cm et 23×1,5 cm.

Pompe : Buchi *Pump Manager* C-615 à deux pompes (pour l'H_2O et l'autre pour le MeOH), France

Module de pompe : Buchi *Pump Module* C-601, France

Collecteur de fractions : Buchi C-660, France

Phase stationnaire : gel de silice en phase inverse RP18 (Silicycle, 75-200µm)

Phase mobile : MeOH-H_2O en mode gradient linéaire

3.1.4 Déterminations structurales des composés purifiés

La spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire RMN monodimensionnelle 1D (^1H et ^{13}C) et bidimensionnelle 2D (COSY, ROESY, HSQC, HMBC, TOCSY, ROESY) ont été utilisées pour l'analyse structurale des différents composés.

3.1.4.1 La spectrométrie de masse

C'est une technique analytique qui joue un rôle important dans l'analyse des métabolites secondaires grâce à sa sensibilité et de son importante capacité de détection. Elle donne des informations telles que le poids moléculaire du composé ainsi que des informations sur la fragmentation de ces derniers.

Les molécules d'intérêt sont introduites dans la source d'ionisation du spectromètre de masse, où ils sont alors ionisés pour acquérir des charges positives et négatives. Les ions se déplacent

ensuite à travers l'analyseur de masse, puis entre en contact avec le détecteur qui est relié à un système informatique. L'ordinateur affiche graphiquement les signaux en tant que spectre de masse montrant l'abondance relative des signaux en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) **(Menet, 2011).**

3.1.4.1.1 Matériel

HR-ESI-MS (High Resolution- ElectroSpray Ionization, mode ion positif) et ESI-MS (ElectroSpray Ionization, mode ion négatif) ont été réalisées sur un spectromètre Q-TOF 1 micromass, USA.

3.1.4.1.2 Les méthodes d'ionisations

L'ionisation d'une molécule peut être obtenue par différents procédés. La méthode d'ionisation par électrospray a été utilisée pour déterminer la masse moléculaire de nos molécules pures.

3.1.4.1.2.1 Ionisation Electrospray (ESI)

Plus récemment, l'ionisation électrospray est devenu l'un des outils d'analyse les plus efficaces pour la caractérisation structurale d'une variété de molécules polaires et thermolabiles (Figure 56). L'ionisation par ESI de la spectrométrie de masse peut être divisé en trois étapes : nébulisation d'une solution de l'échantillon en gouttelettes chargées électriquement, la libération d'ions à partir des gouttelettes, et le transport dans le vide des ions à partir de la région de source d'ionisation (à la pression atmosphérique) jusqu'à l'analyseur de masse **(Ho et al., 2003).**

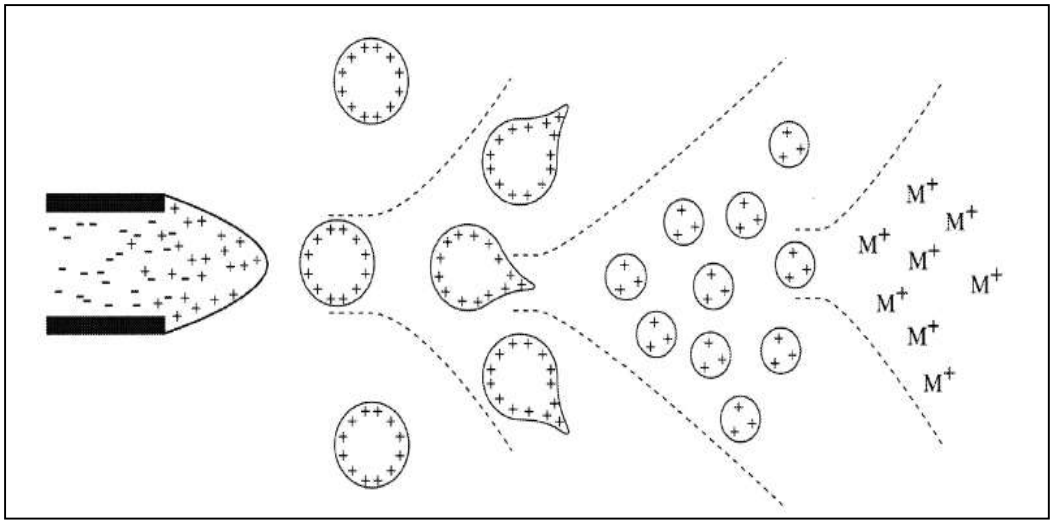


Figure 56: Mécanisme de l'ionisation par électrospray **(Ho et al., 2003)**

3.1.4.2 Résonance magnétique nucléaire

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire exploite le phénomène RMN. Le phénomène étant consacré à l'observation des propriétés de certains noyaux atomiques possédant un *spin* nucléaire (rotation en anglais), par exemple ^{1}H, ^{13}C, ^{17}O, ^{19}F, ^{31}P, ^{129}Xe…, placés dans un champ magnétique. Lorsqu'ils sont soumis à un rayonnement électromagnétique ou radiofréquence, le plus souvent appliqué sous forme d'impulsions, les noyaux atomiques peuvent absorber l'énergie du rayonnement puis la relâcher lors de la relaxation. L'énergie mise en jeu lors de ce phénomène de résonance correspond à une fréquence très précise, dépendant du champ magnétique et d'autres facteurs moléculaires.

La spectrométrie RMN est indiquée pour l'élucidation structurale d'une quantité limitée d'échantillon. Les données RMN sont enregistrées sous forme d'expériences monodimensionnelles et bidimensionnelles, chaque expérience fournit des informations spécifiques à la détermination de la nature de la génine, la structure et la configuration des sucres, l'enchainement des sucres ainsi que les points de fixations du sucre sur la génine **(Fujiwara et Masuda, 1962, Crowley, 2020).**

3.1.4.2.1 Matériel

Les spectres RMN sont enregistrés à l'aide d'un spectromètre UNITY-600/Varian INOVA 600 (Agilent Technologies, USA) équipé d'un système SUN4 L-X DIM à la fréquence de fonctionnement de 600 MHz (mégaherzt). Enregistrement RMN-^{1}H à 600 MHz et RMN-^{13}C à 150 MHz. Le solvant de mesure est le méthanol deutéré (CD_3OD) pour les molécules polaires ou le chloroforme deutéré ($CDCl_3$) pour les apolaires.

3.1.4.2.2 Les spectres monodimensionnels

3.1.4.2.2.1 RMN- ^{1}H

Le spectre RMN du proton d'une molécule est généralement constitué de plusieurs signaux de résonance. Les diverses fréquences de résonance correspondent aux différents types de proton de la molécule, c'est-à-dire à des protons situés dans des environnements différents. Le spectre RMN- ^{1}H d'une molécule permet de distinguer trois zones de résonances :

- De 0.3 à 3 ppm, les protons de la génine en particulier les méthyles.
- De 3 à 4.5 ppm, les protons osidiques (sauf les protons anomèriques) et quelques protons de la génine situés sur des carbones hydroxylés.
- De 4.5 à 6 ppm, les protons anomèriques sous la forme de doublets ou de singulets élargis, et les protons éthyléniques de la génine.

3.1.4.2.2.2 RMN-^{13}C

Le spectre de RMN-^{13}C présente les zones de résonances suivantes :

- De 10 à 60 ppm, les carbones de la génine.
- De 60 à 90 ppm, les carbones osidiques (sauf les anoméres) et certains carbones hydroxylés de la génine.
- Au-delà de 90 ppm, les carbones anomèriques des sucres entre 90 et 110 ppm, le plus blindé étant celui du sucre lié par une liaison ester, et des carbones quaternaires de la génine.

3.1.4.2.2.3 Le spectre DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)

Avec le développement de la RMN du ^{13}C et en particulier la RMN multi-impulsionnelle, il est possible d'obtenir des spectres "DEPT" qui permettent de différencier les quatre types de carbones. Il faut savoir lire un spectre DEPT car il permet de régler les problèmes de superpositions lorsque les carbones ne portent pas le même nombre d'hydrogène. Dans ce type de spectre,

- Le signal du carbone primaire (carbone porteur de 3 H) n'est pas affecté
- Le signal du carbone secondaire (carbone porteur de 2H), est inversé (sens négatif)
- Le signal du carbone tertiaire (carbone porteur de 1H) n'est pas affecté
- Le signal du carbone quaternaire est totalement absent.

3.1.4.2.3 Les spectres bidimensionnels

Les spectres RMN (proton et carbone) des composés naturels donnent des signaux qui se chevauchent et complique donc l'interprétation des spectres. Ce pendant, le couplage interatomique qui est visible par l'analyse des spectres bidimensionnels permet d'élucider aisément la structure chimique du composé.

3.1.4.2.3.1 RMN bidimensionnelle Hétéronucléaire

3.1.4.2.3.1.1 Héteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC)

L'interprétation des spectres HSQC met en évidence les couplages hétéronucléaires directs $^{1}J_{H\text{-}C}$. A l'aide du spectre HSQC, la majorité des carbones protonés sont alors déterminés.

3.1.4.2.3.1.2 Héteronuclear Multiple-Bond Correlation (HMBC)

Cette expérience permet d'établir les couplages hétéronucléaires à longue distance avec les constantes de couplage $^{2}J_{H\text{-}C}$ ou $^{3}J_{H\text{-}C}$. L'interprétation des spectres HMBC optimise l'élucidation structurale de l'aglycone et est essentielle pour déterminer les séquences osidiques, ainsi que la liaison osidique sur l'aglycone et des acides organiques **(Willow, 2011).**

3.1.4.2.3.2 RMN bidimensionnelle Homonucléaire

3.1.4.2.3.2.1 Correlated Spectroscopy (COSY)

L'expérience COSY met en évidence les protons avec les couplages germinaux $^{2}J_{H\text{-}H}$ et les couplages vicinaux $^{3}J_{H\text{-}H}$. Cette expérience est utilisée pour déterminer l'ordre des protons voisins dans un squelette de sucres (Figure 57).

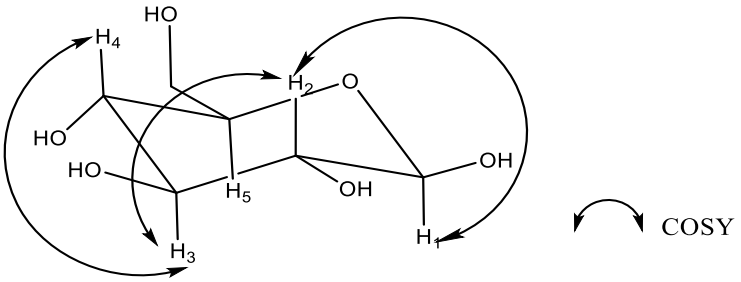


Figure 57 : Corrélations COSY

3.4.1.2.3.2.2 Total Correlation Spectroscopy (TOCSY)

A partir de cette expérience, les corrélations de tous les protons d'un même système de spin, comme pour l'expérience COSY mais sur des constantes de couplage plus importants, sont mis en évidence. Elle est donc importante pour l'analyse de la structure des sucres (Figure 58).

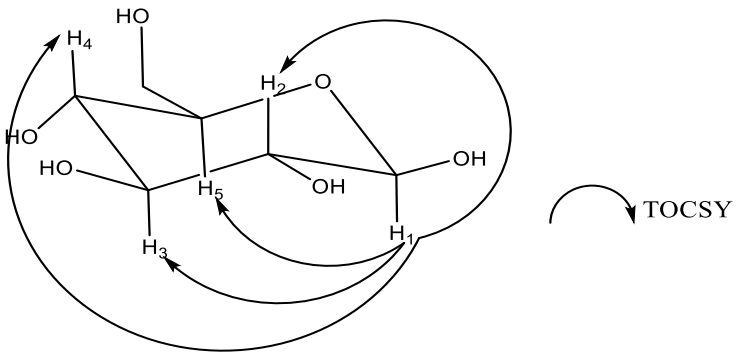


Figure 58 : Corrélations TOCSY

3.4.1.2.3.2.3 Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy (ROESY)

Cette expérience est utilisée pour déterminer l'enchainement des sucres et leurs points de fixation sur la génine (Figure 59). Elle consiste à déterminer la configuration spatiale de certains groupements par la mise en évidence des effets Overhauser entre protons proches dans l'espace. Les corrélations intra sucres permettent de confirmer la structure des unités osidiques (protons axiaux et équatoriaux) et d'établir leurs conformations. La technique utilisée est proche de celle du TOCSY sauf que l'aimantation transversale est maintenue sur

un axe horizontal pendant un temps de mixage et que le transfert de magnétisation a lieu par couplage dipolaire **(Willow, 2011).**

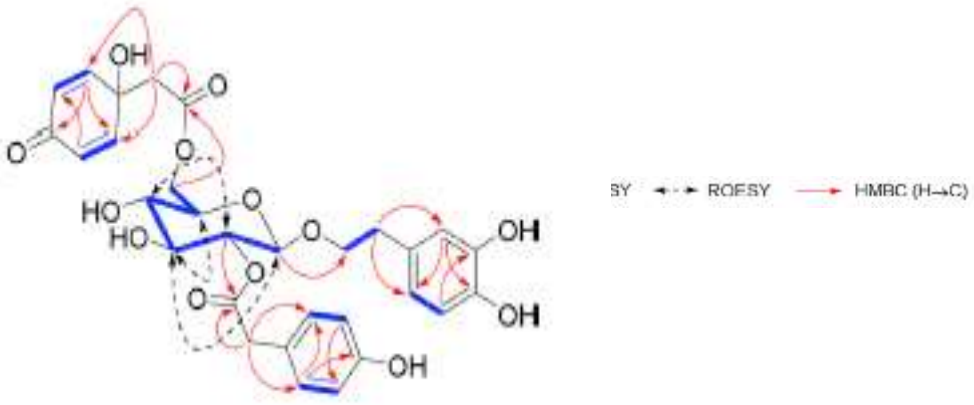


Figure 59: Les corrélations observées à l'aide de différentes expériences bidimensionnelles **(Li et al., 2019).**

3.2 Résultats et discussions

3.2.1 Recherche phytochimique préliminaire

Les résultats des tests phytochimiques classiques sont représentés dans le tableau 28. Les recherches préliminaires révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, des mucilages et des terpenoides dans les feuilles et racines du *P.bovei*.

Tableau 28: Résultats des réactions de caractérisation phytochimique.

Classe phytochimique			**Feuilles**	**Racines**
Alcaloïdes	Réactif de Dragendorff		Négatif	
	Réactif de Bouchardat		Négatif	
	Réactif de Mayer		Négatif	
Flavonoïdes			**Positif**	
Tanins	Recherche préliminaire		**Positif**	
	Tanins galliques (Réactif de Stiasny)		**Positif**	
	Tanins catéchiques	Réactif de Stiasny	**Positif**	
		Réaction de Bate-smith	**Positif**	
Saponosides			Négatif	
Anthracénosides			Négatif	
Hétérosides cardiotoniques			Négatif	
Mucilages			**Positif**	
Coumarines			Négatif	
Terpenoïdes			**Positif**	
Stéroïdes			Négatif	

Calcul de l'indice de mousse :

Le tube dont la hauteur de mousse de 1 cm qui provient de la dilution du décocté de la feuille est le tube n°11. L'indice de mousse (IM) est calculé donc comme suit : IM = 1000/n avec n = 11 donc **IM = 90,90.**

Aucune hauteur de mousse de l'ordre de 1 cm n'a été observée pour les dilutions du décocté des racines de la plante d'où l'impossibilité de calculer l'indice de mousse.

Les résultats phytochimiques préliminaires concordent avec les données de la littérature vu que la famille des Lamiaceae est connu par un métabolisme secondaire orienté vers les composés terpenoides volatils ou non, des flavonoïdes , des tanins,..**(Frezza et al., 2019a)**

3.2.2 Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins

3.2.2.1 Rendement d'extraction

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extractions des feuille du *Phlomis* récoltés dans les deux régions mentionnées dans la figure 60 que le solvant EtOH-H_2O (75 :35) est le meilleur solvant d'extraction suivi par l'eau, l'éthanol et l'acétate d'éthyle. Un meilleur rendement a été obtenu avec l'échantillon B par rapport à l'échantillon A.

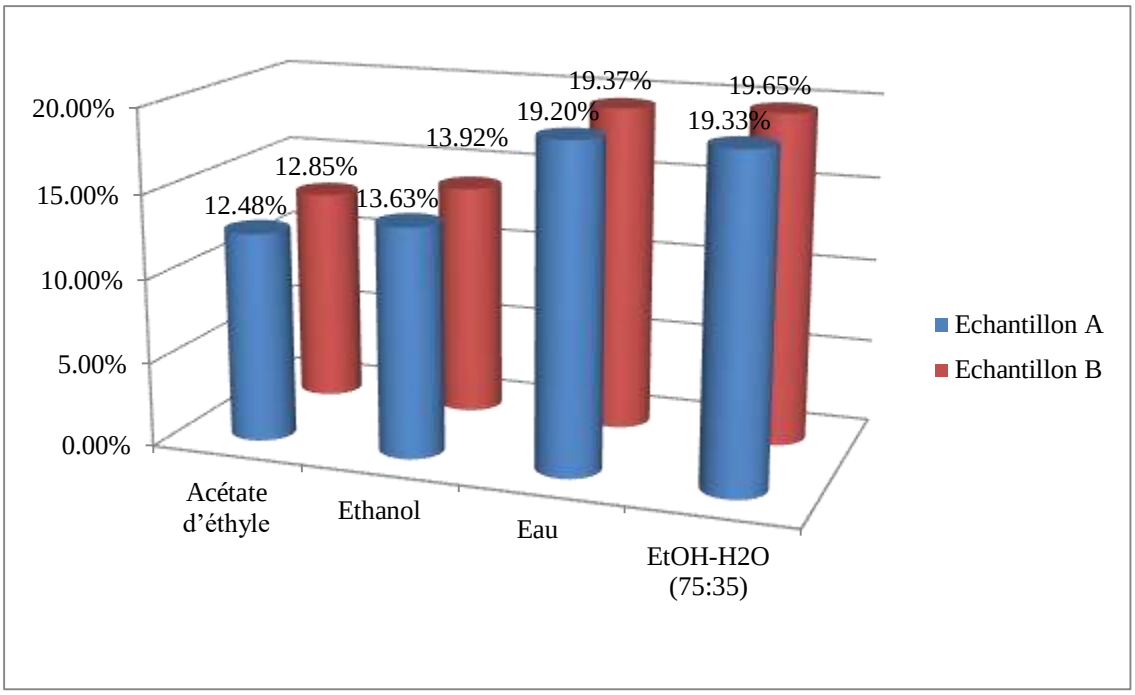


Figure 60: Rendement d'extraction
Echantillon A : *P.bovei* récolté à Chlef ; **Echantillon B** : *P.bovei* récolté à Bouira

3.2.2.2 Dosage des polyphénols

Un polyphénol témoin (acide gallique) a été utilisé pour établir la gamme d'étalon (Figure 61)

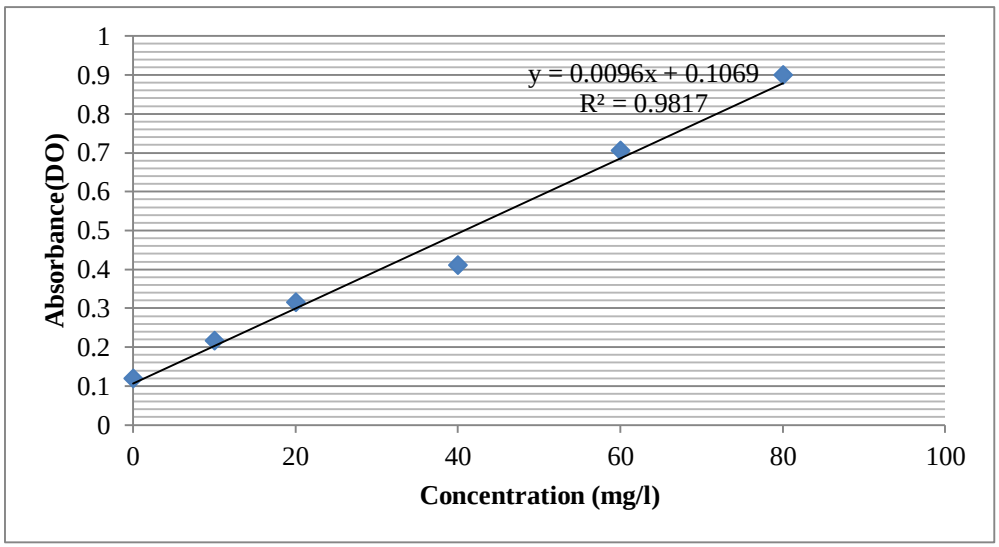


Figure 61: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (765 nm)

Les résultats du dosage des polyphénols obtenus dans les échantillons A et B sont mentionnés dans le tableau 29.

Tableau 29: Dosage des polyphénols dans les feuilles de *P.bovei*.

Solvant	**Echantillon A** (mg EAG/g ES)	**Echantillon B** (mg EAG/g ES)
Eau	13,86 ± 0,41	45,81 ± 0,25*
Ethanol (EtOH)	44,49 ± 0,96	45,17 ± 1,05**
EtOH-H_2O (75 :35)	51,30 ± 1,38	**52,17 ± 1,08****
Acétate d'éthyle	7,10 ± 0,38	7.12 ± 0,35**

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD (Standard deviation).
Mg EAG/gES : mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec.
Test t Student, Echantillon **B** vs Echantillon **A**,*P<0, 0001,**P>0, 05

La variation de la teneur en polyphénols dans les extraits de chaque échantillon est hautement significative (Test Anova, p < 0,0001).

Selon le test t Student, les valeurs obtenues dans l'échantillon A et B ne révèlent pas de différence significative (P > 0,05) sauf pour les extraits aqueux (P<0,0001), toutefois, l'échantillon B semble être le plus riche et l'extrait hydroalcoolique de l'échantillon B enregistre les teneurs en polyphénols totaux les plus élevés (52,17 ± 1,08 EAG/g ES)

Ces résultats sont plus ou moins en accord avec ceux rapportés dans des études antérieures sur l'extrait méthanolique de deux autres espèces récoltées en Chine : *P.umbrosa* Turcs. (39,43 ± 0,44 EAG/g ES) et *P. megalantha* Diels (55,20 ± 0,88 EAG/g ES) **(Zhang et Wang, 2009)** ainsi que sur l'extrait méthanolique de deux espèces turques *:P. pungens var. pungens* (41,10 ± 2,69 EAG/g ES), *P. nissolii* L.(50,83 ± 1,11 EAG/g ES) **(Sarikurkcu et al., 2014)** et inferieurs à ceux retrouvés dans l'extrait hydroalcoolique de trois espèces récoltées en Jordanie : *P. brachyodon* (Boiss.) Zohary ex Rech.f. (216.80 ± 7.94 EAG/g ES), *P. platystagia* Post (134.55 ± 7.79 EAG/g ES) *et P. viscosa* Poir. (149.26±5.41 EAG/g ES) **(Al-Qudah et al., 2018)**

3.2.2.3 Dosage des flavonoïdes

La rutine a été utilisée pour établir la gamme d'étalon (Figure 62).

La variation de la teneur en flavonoïdes dans les extraits de chaque échantillon A et B est hautement significative (Test Anova, p <0, 0001) (Tableau 30).

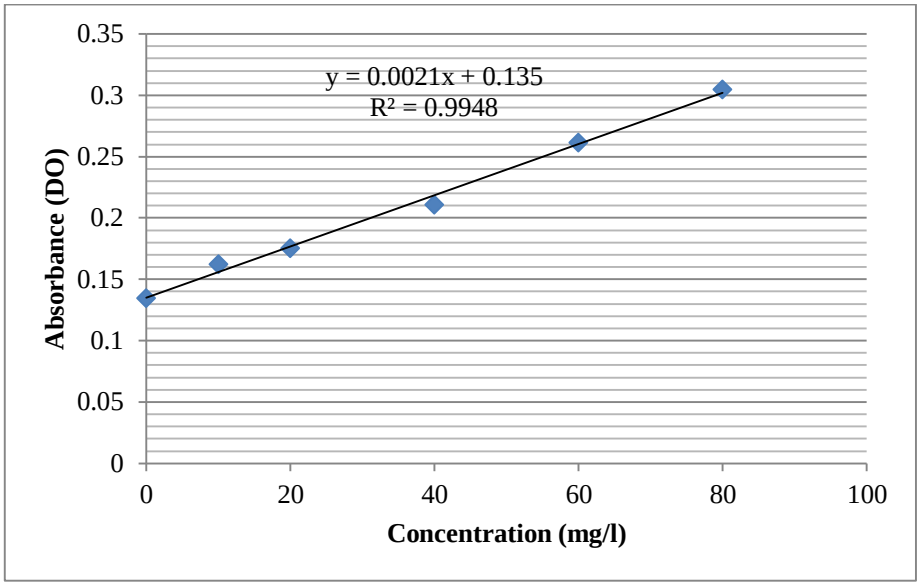


Figure 62: Courbe d'étalonnage de la rutine (415 nm)

Les extraits de l'échantillon B présentent les teneurs les plus élevées sauf pour l'extrait alcoolique. La valeur la plus élevée a été observée dans l'extrait hydroalcoolique de l'échantillon B (216,30 ± 2,30 mg ER/g ES). Cette dernière est en accord avec celle retrouvée dans l'extrait hydroalcoolique de *P. platystagia* Post (223.00 ± 3.33**) (Al-Qudah et al., 2018).**

Les valeurs retrouvées sont supérieures à celles rapportées dans des études antérieures réalisées sur l'extrait méthanolique de deux espèces chinoises *P.umbrosa* Turcs. (17.12± 1.66) et *P. megalantha* Diels (35.91 ± 1.90) **(Zhang et Wang, 2009)** et sur l'extrait méthanolique de deux espèces turques *: P. pungens var. pungens* (56,08 ± 1,13 mg ER/g ES) et *P. nissolii* L.(54,60 ± 1,38 mg ER/g ES*)* **(Sarikurkcu et al., 2014)**

Tableau 30: Dosage des flavonoïdes dans les feuilles du *P.bovei*.

Solvant	**Echantillon A** (mg ER/g ES)	**Echantillon B** (mg ER/g ES)
Eau	74,79 ± 1,19	93,58 ± 0,76*
EtOH	207,41 ± 1,84	174,23 ± 1,92*
EtOH-H_2O (75 :35)	173,07 ± 1,95	**216,30 ± 2,30***
Acétate d'éthyle	108,45 ± 1,48	112,25 ± 1,89**

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD
mg ER/g ES : mg d'équivalent de rutine par gramme d'extrait sec.
Test t Student, Echantillon **B** vs Echantillon **A**,*P<0, 0001, **P>0, 05

3.2.2.4 Dosage des tanins

La gamme étalon est établie avec la catéchine (0-80 µg/ml) (Figure 63).

Selon le test t Student, les teneurs en tanins condensés obtenus dans l'échantillon A et B, représentées dans le tableau 31, ne révèlent pas de différence significative (P > 0,05) sauf pour les extrait d'acétate d'éthyle (P<0,0001).

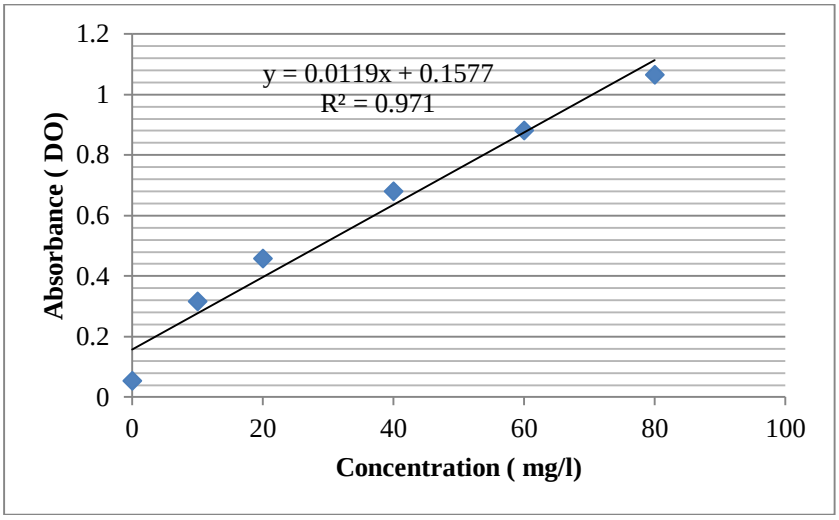


Figure 63: courbe d'étalonnage de la catéchine (550 nm)

Toutefois, l'extrait aqueux de l'échantillon B enregistre les teneurs en tanins les plus élevées suivie par l'acétate d'éthyle, EtOH-H_2O, et l'éthanol sachant que l'eau spécialement à haute température extrait aussi d'autres substances comme les protéines, les lipides qui peuvent causer des interférences lors du dosage des tanins **(Jokic et al., 2010).**

Tableau 31 : Dosage des tanins dans les feuilles du *P.bovei.*

Solvant	**Echantillon A** (mg ECAT/g ES)	**Echantillon B** (mg ECAT/g ES)
Eau	7,27 ± 0,46	8,25 ± 0,99**
EtOH	5,77 ± 0,87	6,37 ± 0,31**
EtOH-H_2O (75 :35)	5,57 ± 0,56	6,89 ± 0,54**
Acétate d'éthyle	1,36 ± 0,21	7,32 ± 0,81*

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD
mg ECAT/g ES : mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec.
Test t Student, Echantillon **B** vs Echantillon **A**,*P<0, 0001, **P>0, 05

Suite aux résultats des différents dosages, il a été constaté que l'extraction des composés polyphénolique est une étape cruciale pour la valorisation des principes actifs, elle dépend de la nature chimique du composé, du solvant utilisé et des conditions opératoires.

A partir de cette étude, il en ressort que l'extrait hydroalcoolique de l'échantillon B reste le plus riche en composés phénoliques. Il sera alors sélectionné pour l'évaluation de l'activité cicatrisante.

3.2.3 Phytochimie extractive et structurale

3.2.3.1 Rendement d'extraction

Un résidu sec de couleur vert de 4,7 g a été obtenu à partir des feuilles soit un rendement de 23,5% et 6,17 g de résidu sec de couleur marron foncé à partir des racines soit un rendement de 12.3%.

3.2.3.2 Elucidation structurale

Il s'agit de la première étude phytochimique qui a porté aussi bien sur les feuilles que sur les racines de *P.bovei*.

L'étude phytochimique du *P. bovei* a permis l'isolement de **16 composés** de structures connues, isolés pour la première fois dans l'espèce algérienne. Les composés **(1, 2, 4, 5, 6, 10)** ont été isolés des feuilles et les composés **(1, 2, 3, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16)** ont été obtenus à partir des racines.

Les métabolites secondaires isolés font partie de plusieurs classes phytochimiques : trois iridoïdes **(1, 2, 3**), deux mégastigmanes **(4, 5),** quatre phénylpropanoïdes **(6, 7, 8, 9,10**), quatre lignanes **(11, 12, 13,14**), un nortriterpène **(15)** et un phényle glucoside **(16).**

3.2.3.2.1 Description du composé 1

3.2.3.2.1.1 Spectrométrie de masse

Le composé **1** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m / z 445.7 $[M + Na]^+$ (Figure 64), et 867.0 $[2M + Na]^+$, ce qui indique une masse moléculaire de 422. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{17}H_{26}O_{12}$.

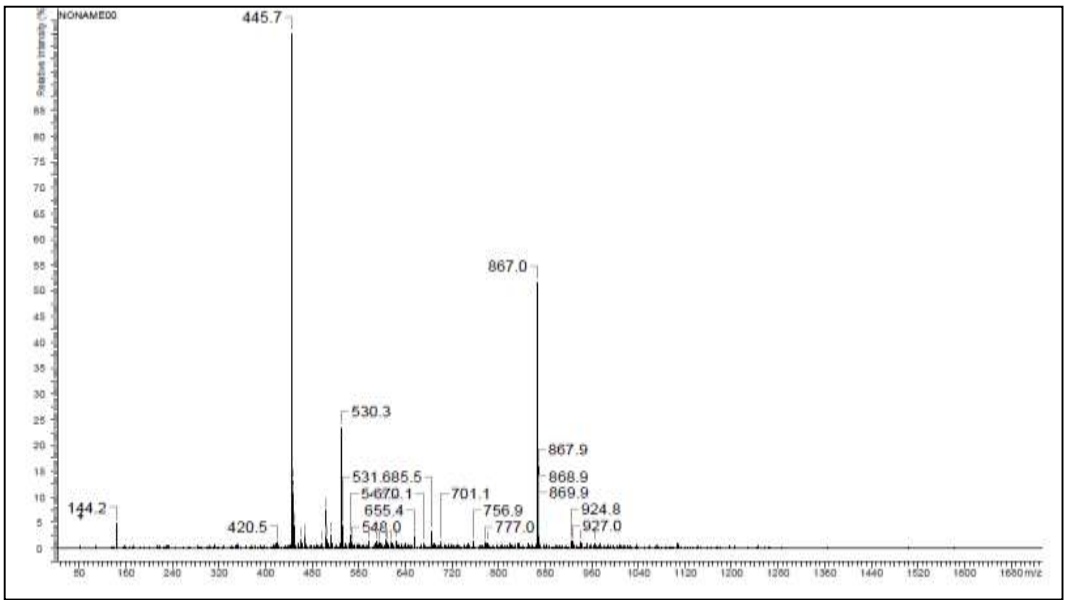


Figure 64: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **1**

3.2.3.2.1.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.1.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN^{13}C du composé **1** en combinaison avec le spectre DEPT nous ont permis de mettre en évidence 17 carbones dont un méthyle, un méthoxy, un carbone secondaire et trois carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, ROESY (Figure 65).

Les signaux caractéristiques du composé sont détaillés dans le tableau 32.

Le spectre RMN^{1}H du composé **1** enregistré dans le méthanol montre des signaux de résonance propres à un noyau iridoide (Tableau 32). En effet, on observe :

- Deux doublets résonant à 7.40 et 5.60 ppm caractéristiques des protons H-3 et H-1 respectivement.
- Un triplet résonant à 3.94 ppm attribué aux protons H-6.
- Un doublet résonant à 3.54 ppm correspondant au proton H-7.

- Un signal sous forme d'un doublet de doublet résonant à 2.79 ppm correspondant au proton H-9
- Un singulet résonant à 3.72 ppm caractéristique d'un groupement méthoxy.
- Un singulet résonant à 1.20 ppm attribuable à un groupement méthyle.

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet de caractériser les couplages entre :

- Le proton résonant à 5.60 ppm attribué au proton H-1 et les carbones C-1′ et C-3. Le couplage du proton H-1 et le carbone anomère C-1′ du glucose confirme que ce dernier est lié au C-1 de la génine.
- Le proton H-3 et un carbone quaternaire résonant à 169.5 ppm caractéristique d'une fonction carboxyle, ainsi qu'avec un autre carbone quaternaire à 111.6 ppm qui ne peut être que le C-4, ceci implique alors que le carbone quaternaire C-4 porte un groupement $COOCH_3$.
- Le proton H-5 à 2.92 ppm et les carbones C-4 et -C6 à 111.6 et 77.8 ppm respectivement.
- Le proton H-7 à 3.54 ppm et les carbones C-5, C-6 et C-8 à 37.7, 77.8 et 78.6 ppm respectivement.
- Les protons du groupement méthyle à 1,2 ppm et le carbone C-9 à 48.5 ppm, ainsi qu'un carbone quaternaire résonant à 78.6 ppm ne peut être que le carbone C-8.

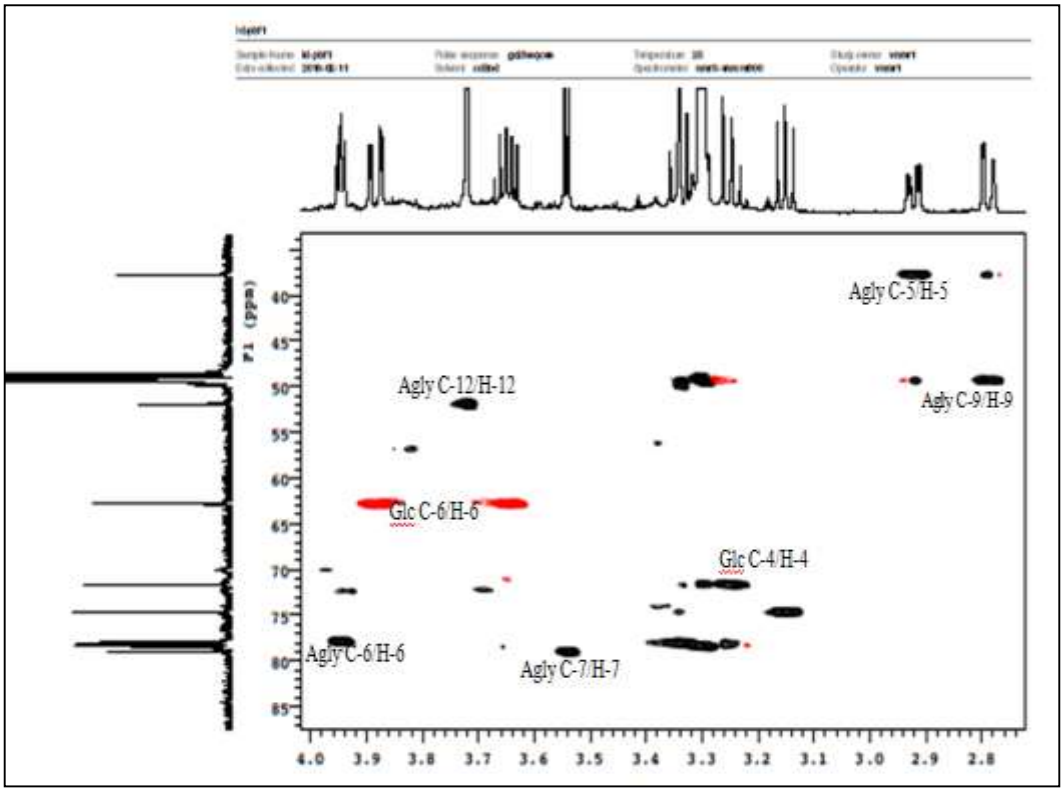


Figure 65: Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **1**

32.3.2.1.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN^{1}H montre des signaux caractéristiques d'un hexose, par la présence d'un seul proton anomérique H-1′ résonant sous forme d'un doublet à 4.60 ppm, et des signaux dans l'intervalle entre 3.15 et 3.88 ppm (Figure 66).

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère H-1′ et le proton H-2′ résonant à 3.15 ppm (dd, J = 8.0, 9.0 Hz).

La corrélation HMBC entre H-1 qui résonne à 5.60 ppm et le carbone C-1′ qui apparait à 99.8 ppm suggère que le sucre est fixé au C-1 de l'aglycone.

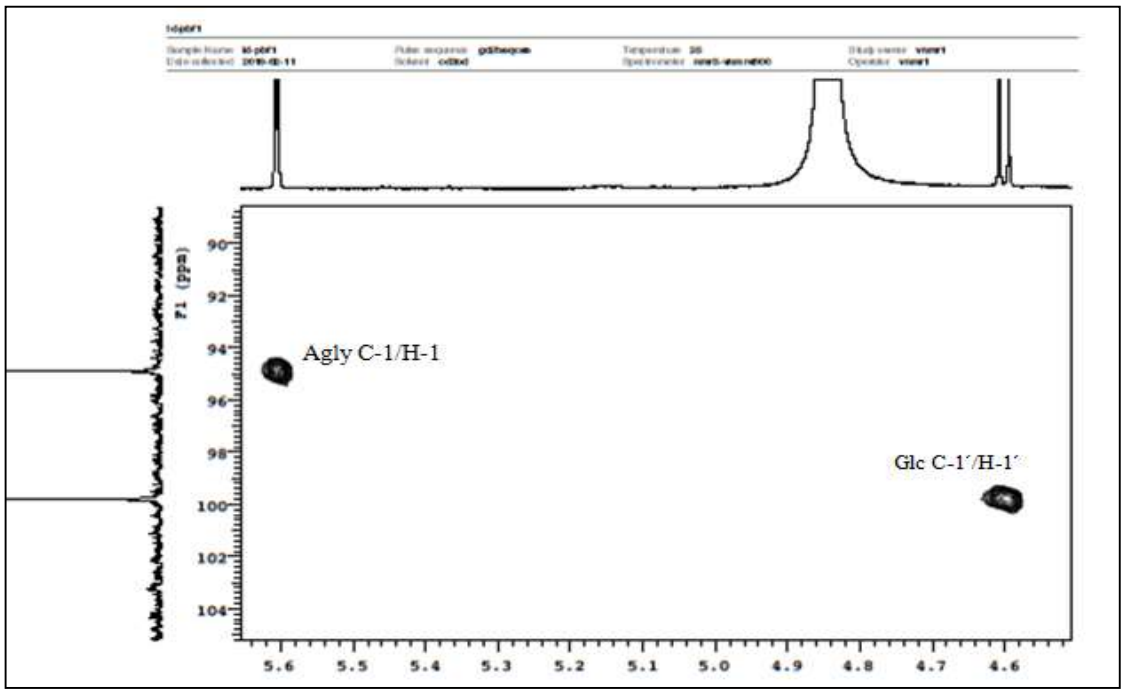


Figure 66 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **1.**

Les grandes valeurs de constantes de couplage des protons du sucre indiquent que les protons sont axiaux. Il s'agit donc d'un D glucose de configuration β au regard de la constante de couplage $J_{1\text{-}2}$ = 8.1 Hz.

Au vu des résultats d'analyses de tous les spectres, le composé **1** est un iridoide glycoside et a été identifié comme **Lamalbide** (Figure 67).

Tableau 32 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **1** (CD_3OD, RMN^{13}C: 150 MHz, RMN^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	5.60 (d, 2.0)	94.8
3	7.40 (d, 0.8)	152.8
4	/	111.6
5	2.92 (dd, 10.8, 3.6)	37.7
6	3.94 (t, 4.0)	77,8
7	3.54 (d, 4.8)	78.9
8	/	78.6
9	2,79 (dd, 10.4, 2.0)	48.5
10	1.20 (s)	22.1
11	/	169.5
12-OCH_3	3.72 (s)	51.8
β-glucose		
1´	4.60 (d, 8.1)	99.8
2´	3.15 (dd, 8.0, 9.0)	74.6
3´	3.34 (t, 8.8)	77.9
4´	3.24 (t, 8.8)	71.6
5´	3.31 (m)	78.3
6´α	3.65 (dd, 12.0, 6.4)	62.8
6´β	3.88 (dd, 12.0, 2.0)	

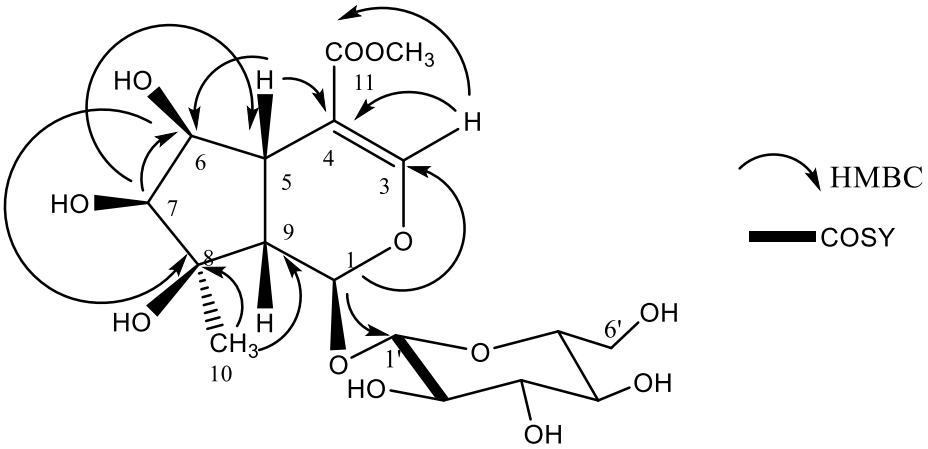


Figure 67: Structure du composé naturel **1**.

3.2.3.2.2 Description du composé 2

3.2.3.2.2.1 Spectrométrie de masse

Le composé **2** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m / z 429.7 $[M + Na]^+$ce qui indique une masse moléculaire de 406. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{17}H_{26}O_{11}$.

3.2.3.2.2.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.2.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN^{13}C et le DEPT du composé **2** nous ont permis de mettre en évidence 17 carbones dont un méthyle, un méthoxy, deux carbones secondaires et trois carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Figure 68). Les signaux caractéristiques du composé **2** sont détaillés ci-dessous.

Le spectre RMN^{1}H du composé **2** enregistré dans le méthanol montre des signaux de résonance propres à un noyau iridoide (Tableau 33). En effet, on observe :

- Deux doublets résonant à 7.40 et 5.56 ppm caractéristiques des protons H-3 et H-1 respectivement.
- Un multiplet résonant à 4.26 ppm attribué au proton H-6.
- Un doublet de doublet résonant à 2.00 et 1.81 ppm correspondant aux deux protons H-7α et H-7β.
- Un signal sous forme d'un doublet de doublet résonant à 2.60 ppm correspondant au proton H-9.
- Un singulet résonant à 3.72 ppm caractéristique d'un groupement méthoxy.
- Un singulet résonant à 1.25 ppm attribuable à un groupement méthyle.

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 5.60 ppm attribué au proton H-1 et les carbones C-1′ et C-3. Le couplage du proton H-1 et le carbone anomère C-1′ du glucose confirme que le glucose est lié au C-1 de la génine.
- Le proton H-3 et un carbone tertiaire C-5 résonant à 41.4, un carbone quaternaire résonant à 169,5 ppm caractéristique d'une fonction carboxyle, ainsi qu'avec un autre carbone quaternaire à 111.6 ppm qui ne peut être que le C-4, ce qui implique que le carbone quaternaire C-4 porte un groupement $COOCH_3$.
- Le proton H-5 à 3.00 ppm et les carbones C-6 et C-8 à 77.4 et 79.0 ppm respectivement.

- Le proton H-7α à 2.00 ppm et les carbones C-5, C-6 et C-8 à 41.4, 77.4 et 79.0 ppm respectivement.

- Les protons du groupement méthyle à 1.25 ppm et les carbones C-7 et C-9 à 49.2 et 51.7 ppm respectivement, ainsi qu'un carbone quaternaire résonant à 79.4 ppm qui ne peut être que le carbone C-8.

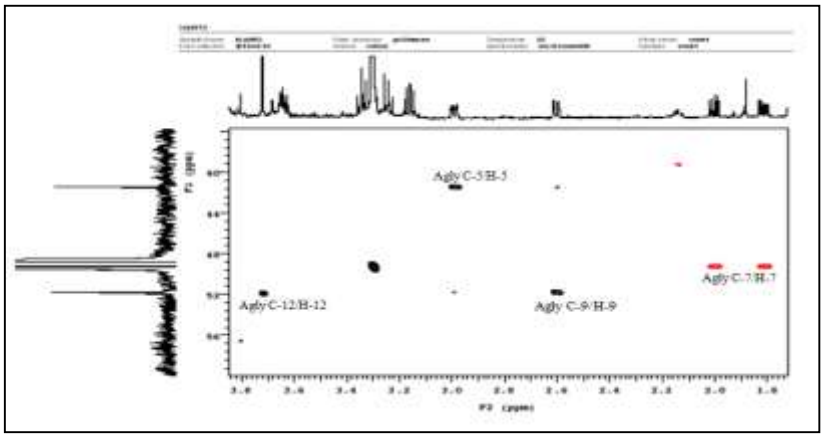


Figure68 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **2**

3.2.3.2.2.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN^{1}H montre également des signaux caractéristiques d'un hexose, par la présence d'un seul proton anomérique H-1′ résonant sous forme d'un doublet à 4.62 ppm, et des signaux dans l'intervalle entre 3.16 et 3.88 ppm (Figure 70).

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomérique H-1′ et le proton H-2′ résonant à 3.16 ppm (dd, 9.2, 8.0 Hz).

La corrélation HMBC entre H-1 qui résonne à 5.56 ppm et le carbone C-1´ qui apparait à 99.8 ppm suggère que le sucre est fixé au C-1 de l'aglycone.

Cette analyse spectrale nous a permis d'attribuer tous les protons et les carbones constituant cette molécule. Le composé **2** est un iridoide glycoside identifié comme le **shanzhiside méthyle ester** (Figure 69).

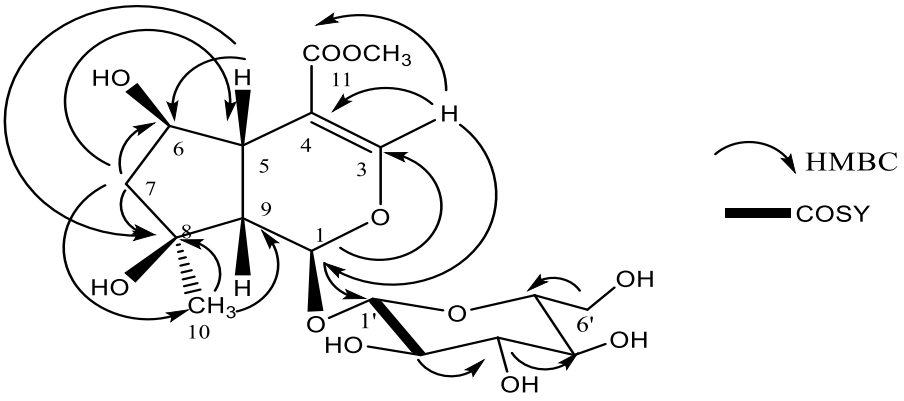


Figure 69: Structure chimique du composé naturel **2.**

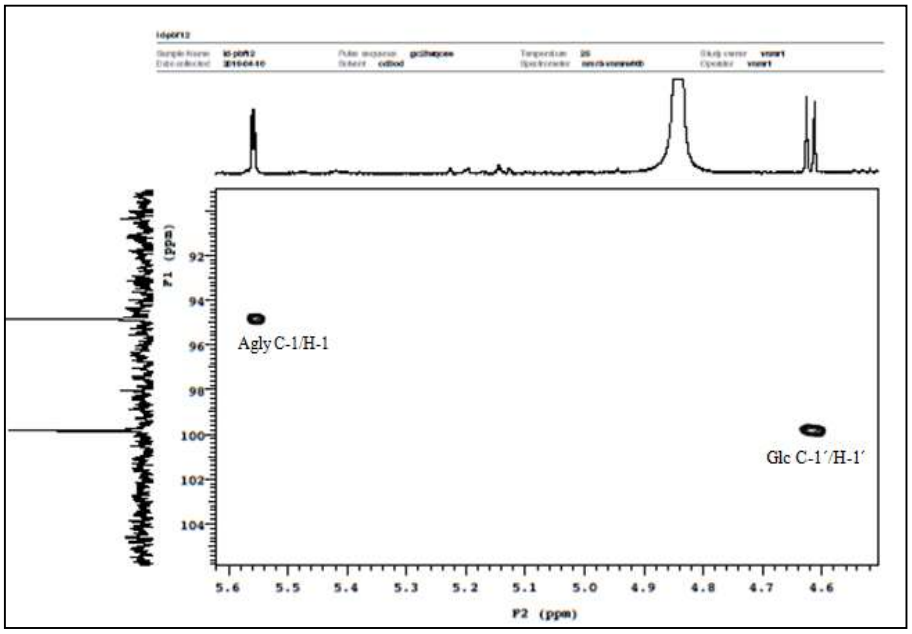


Figure 70 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **2.**

Tableau 33: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **2** (CD_3OD, RMN^{13}C: 150 MHz, RMN^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	5.56 (d, 2.4)	94.8
3	7.40 (d, 0.8)	152.8
4	/	111.4
5	3.00 (dd, 10.0, 3.6)	41.4
6	4.26 (m)	77.4
7α	2.00 (dd, 13.2, 6.4)	49.2
7β	1.81 (dd, 13.2, 6.0)	
8	/	79.0
9	2.60 (dd, 10.4, 2.8)	51.7
10	1.25(s)	24.6
11	/	169.7
12-OCH_3	3.72 (s)	51.8
β-glucose		
1´	4.62 (d, 8.0)	99.8
2´	3.16 (dd, 9.2, 8.0)	74.6
3´	3.34 (t, 9.0)	78.0
4´	3.24 (t, 8.8)	71.6
5´	3.30 (m)	78.3
6´α	3.64 (dd, 12.0, 6.0)	62.8
6´β	3.88 (dd, 12.0, 2.4)	

3.2.3.2.3 Description du composé 3

3.2.3.2.3.1 Spectrométrie de masse

Le composé **3** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m / z 443.0 $[M + Na]^+$ et 863.1 $[2M + Na]^+$, ce qui indique une masse moléculaire de 420 (Figure 71). Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{17}H_{24}O_{12}$.

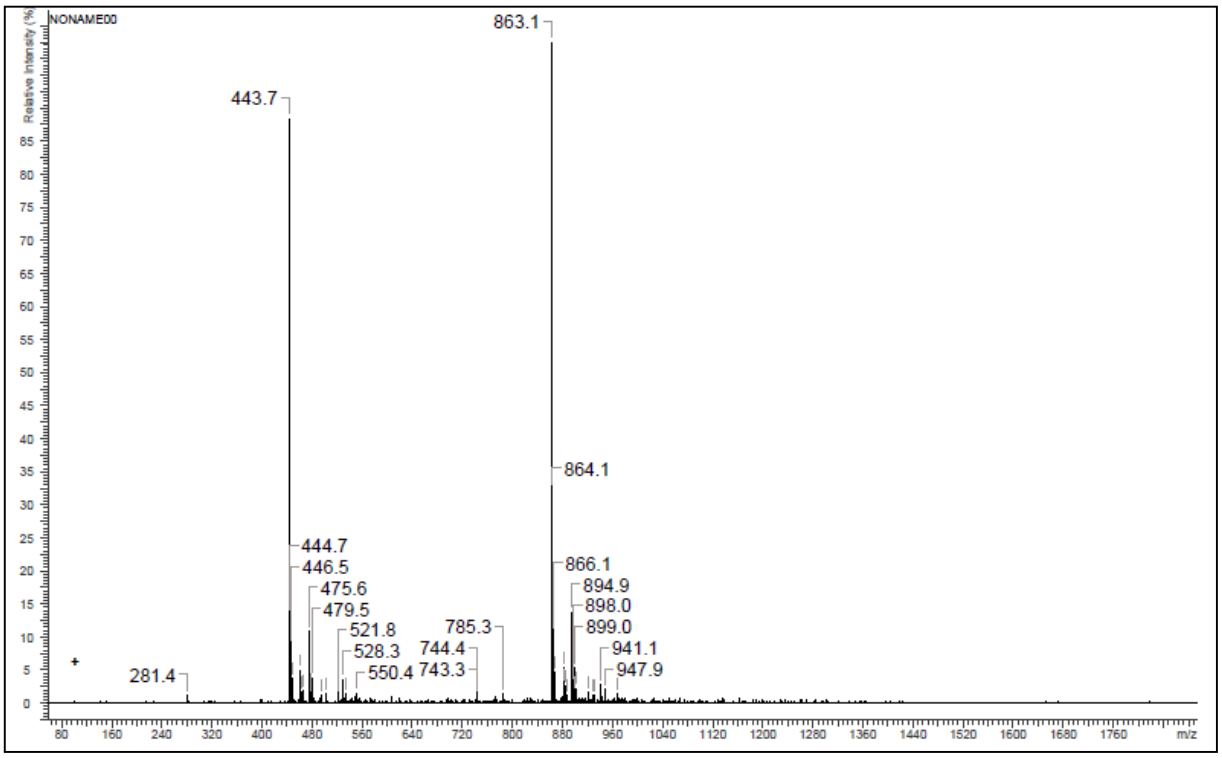


Figure 71: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **3**

3.2.3.2.3.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.3.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN^{13}C avec le DEPT du composé **3** nous ont permis de mettre en évidence 17 carbones dont un méthyle, un méthoxy, un carbone secondaire et quatre carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Figure 72).

Le spectre RMN^{1}H du composé **3** enregistré dans le méthanol montre des signaux de résonance propres à un noyau iridoide (Tableau 34). En effet, on observe :

- Un doublet et un singulet résonants à 5.47 et 7.45 ppm caractéristiques des protons H-1 et H-3 respectivement.
- Un doublet résonant à 4.30 ppm attribué au proton H-6.
- Un singulet à 3.44 ppm correspondant au proton H-7.

- Un signal sous forme d'un doublet résonant à 2.51 ppm correspondant au proton H-9.
- Un singulet résonant à 3.72 ppm caractéristique d'un groupement méthoxy H-12.
- Un singulet résonant à 1.48 ppm attribuable à un groupement méthyle H-10.

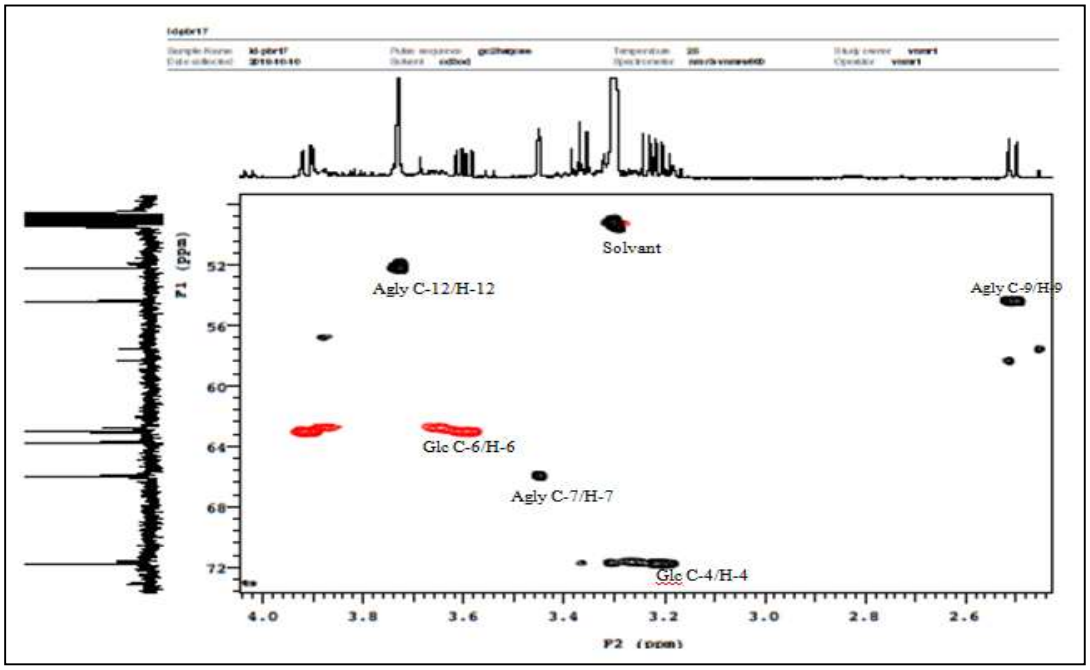


Figure 72: Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **3**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 5.47 ppm attribué au proton H-1 et le carbone C-1′. Ce couplage confirme que le glucose est lié au C-1 de la génine.
- Le proton H-3 avec un carbone tertiaire résonant à 96.8 ppm et trois carbones quaternaires C-5, C-4 et C-11 qui résonnent à 74.9, 113.0 et 169.0 respectivement. Le carbone quaternaire résonant à 169,5 ppm est caractéristique d'une fonction carbonyle.
- Le proton H-7 à 3.44 ppm et les carbones C-5 et C-6 à 74.9 et 77.6 ppm respectivement.
- Les protons du groupement méthyle à 1.48 ppm et les carbones C-7, C-8 et C-9 à 65.9, 63.7 et 54.4 ppm.

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton H-1 et le proton H-9 ainsi que le proton H-6 et H-7.

3.2.3.2.3.2.2 Détermination du sucre

Le spectre proton montre également des signaux caractéristiques d'un hexose, par la présence du proton anomérique H-1′ résonant sous forme d'un doublet à 4.70 ppm (Figure 73), et des signaux dans l'intervalle entre 3.20 et 3.91 ppm.

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère H-1′ et le proton H-2′ résonant à 3.23 ppm (dd, 9.2, 8.0 Hz).

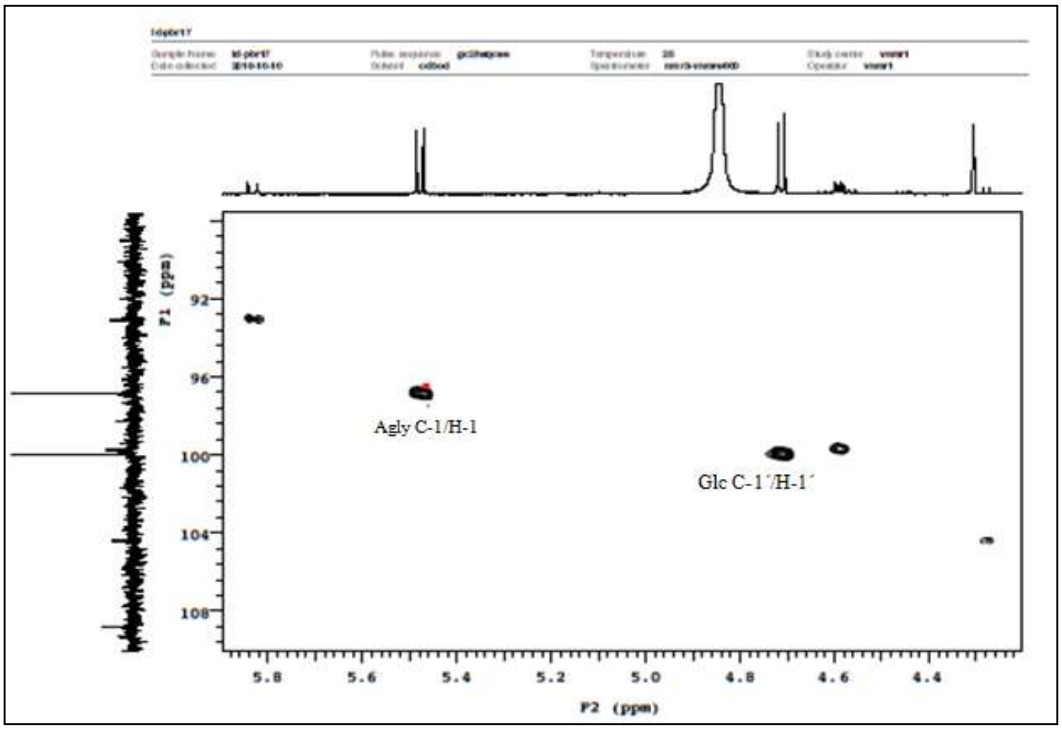


Figure 73 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **3.**

La corrélation HMBC entre H-1 qui résonne à 5.47 ppm et le carbone C-1´ qui apparait à 99.9 ppm suggère que le sucre est fixé au C-1 de l'aglycone.

Les grandes valeurs des constantes de couplage des protons du sucre indiquent que les protons sont axiaux. Il s'agit donc d'un D glucose de configuration β au regard de la constante de couplage $J_{1\text{-}2}$ = 8.0 Hz.

Cette analyse spectrale nous a permis d'attribuer tous les protons et les carbones constituant cette molécule. Le composé **3** est un iridoide glycoside identifié comme le **Sésamoside** (Figure 74).

Tableau 34 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **3** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C ppm
Aglycone		
1	5.47 (d, 8.8)	96.8
3	7.56 (s)	155.4
4	/	113.0
5	/	74.9
6	4.30 (d, 1.6)	77.6
7	3.45 (s)	65.9
8	/	63.7
9	2.51 (d, 8.8)	54.4
10	1.48 (s)	17.7
11	/	169.0
12-OCH_3	3.73 (s)	52.2
β-glucose		
1´	4.70 (d, 8.0)	99.9
2´	3.23 (dd, 9.2, 8.0)	74.7
3´	3.37 (t, 8.8)	77.7
4´	3.20 (t, 8.8)	71.8
5´	3.30 (m)	78.7
6´α	3.60 (dd, 12.0, 6.8)	63.0
6´β	3.91 (dd, 12.0, 2.4)	

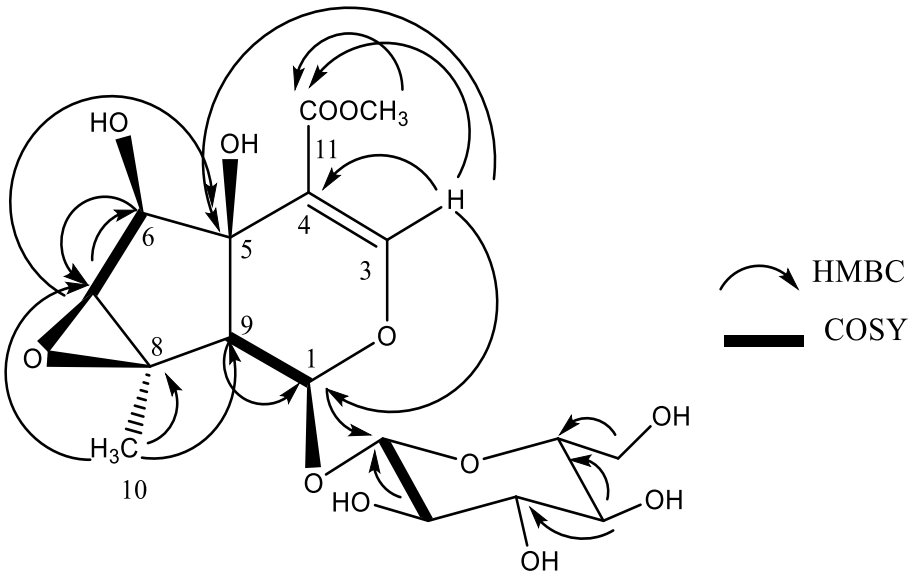


Figure 74: Structure chimique du composé naturel **3**

3.2.3.2.4 Description du composé 4

3.2.3.2.4.1 Spectrométrie de masse

Le composé **4** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m /z 411.7 $[M + Na]^+$ et un autre à m/z 799.1 $[2M + Na]^+$ ce qui indique une masse moléculaire de 388 (Figure 75). Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{19}H_{32}O_8$.

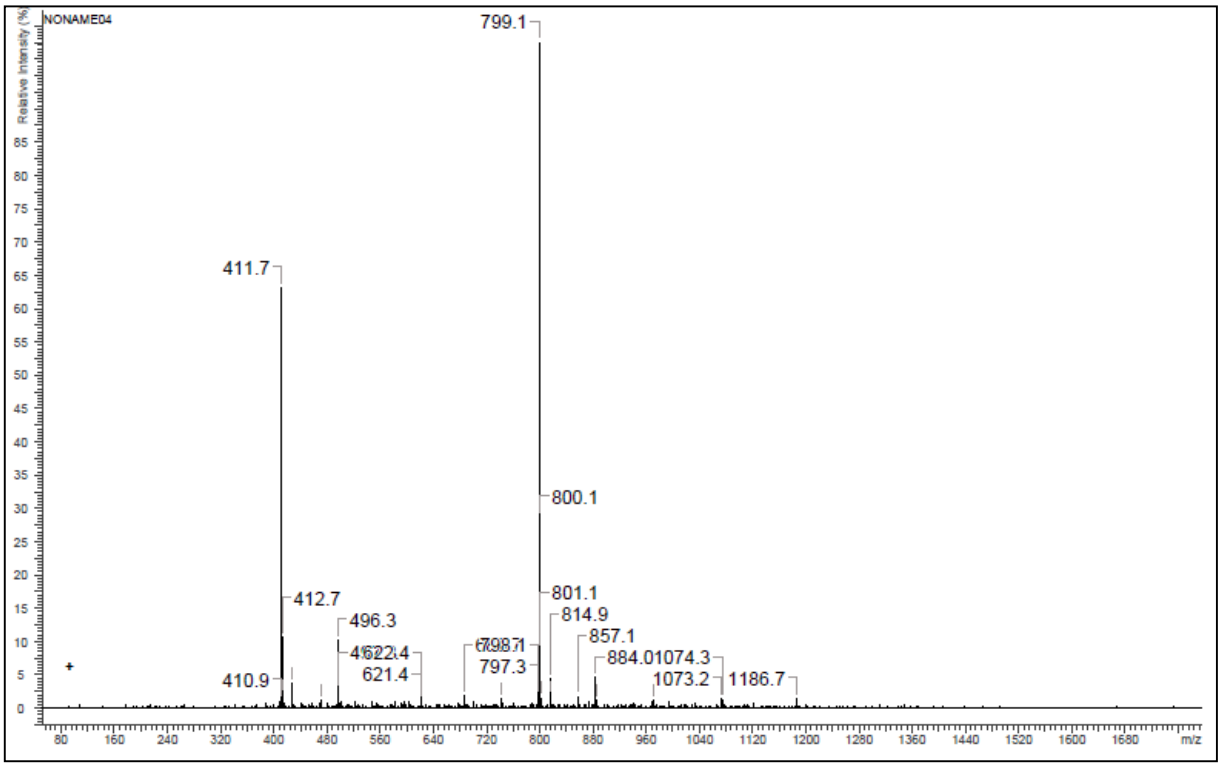


Figure 75: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **4**

3.2.3.2.4.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.4.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN^{13}C avec le DEPT du composé **4** , nous ont permis de mettre en évidence 19 carbones dont quatre méthyles, trois carbones secondaires et trois carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres, HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Figure 76).

Le spectre RMN^{1}H du composé **4** enregistré dans le méthanol montre des signaux de résonance propres à un mégastigmane (Tableau 35). En effet, on observe :

- Un doublet de doublet de doublet résonant à 1.54 ppm caractéristiques du proton H-2
- Deux doublets de doublets résonant à 1.60 ppm et 2.25 ppm attribués au proton H-4

- Un doublet et un doublet de doublet résonant à 5.94 et 5.72 correspondants aux protons H-7 et H-8 respectivement.
- Un signal sous forme de doublet de doublet de doublet résonant à 4.40 ppm correspondant au proton H-9.
- Trois singulets qui résonnent à 1.11 ppm, 0.96 ppm et 1.18 ppm caractéristiques des protons H-11, H-12 et H-13 correspondent aux groupements méthyles.

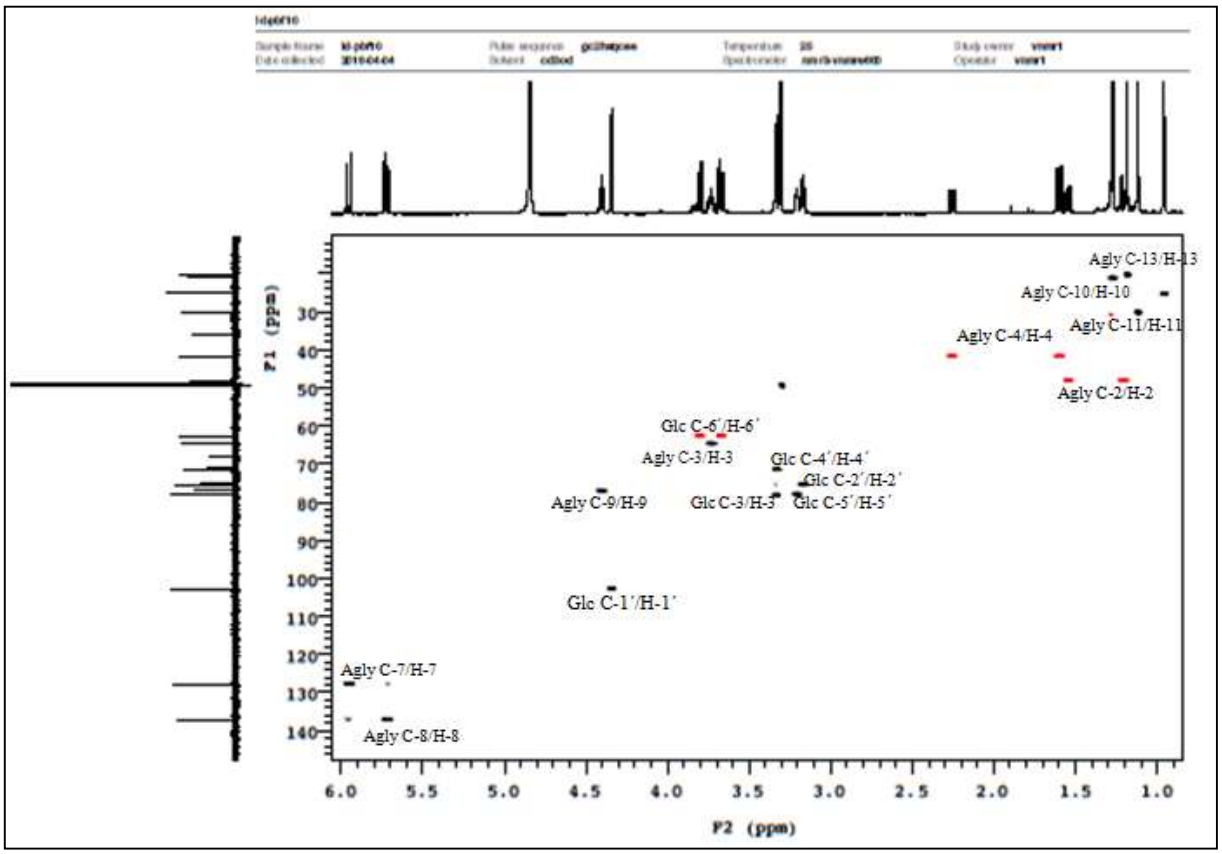


Figure 76: Spectre HSQC du composé **4.**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC nous a permis d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 4.40 ppm attribué au proton H-9 et le carbone C1′. Ce couplage confirme que le glucose est lié au C-9 de la génine.
- Le proton H-4 résonant à 2.25 ppm avec deux carbones quaternaires C-5 et C-6 qui résonnent à 71.1 et 68.0 respectivement et un carbone tertiaire C-3 résonant à 64.5 ppm.
- Le proton H-13 du groupement méthyle résonant à 1.18 ppm et les carbones C4, C5 et C6 qui résonnent à 41.5, 71.1 et 68.0 ppm respectivement.

3.2.3.2.4.2.2 Détermination du sucre

Le spectre proton montre des signaux caractéristiques d'un hexose. On a noté la présence du proton anomérique H-1′ résonant sous forme d'un doublet à 4.34 ppm (Figure 76), et des signaux dans l'intervalle entre 3.20 et 3.80 ppm. L'expérience COSY nous a permis de relier le proton H-1´et le proton H-2´, le proton H-2´ et H-3´ et le proton H-3´et H-4´. La corrélation HMBC entre H-9 qui résonne à 4.40 ppm et le carbone C-1´ qui apparait à 102.6 ppm suggère que le sucre est fixé au C-9 de l'aglycone.

Les grandes valeurs des constantes de couplage des protons du sucre indiquent que les protons sont axiaux. Il s'agit donc d'un D glucose de configuration β au regard de la constante de couplage $J_{1\text{-}2}$ = 7.6 Hz.

Au vu de ces résultats, le composé **4** est un mégastigmane glycoside identifié comme le 3β-hydroxy-5α,6α-epoxy-β-ionol 9-O-β-D glucopyranoside nommé **Phlomuroside** (Figure 77).

Tableau 35 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **4** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C ppm
Aglycone		
1	/	35.9
2	1.54 (ddd, 12.4, 3.6, 3.2) 1.20 (dd, 12.8, 10.8)	47.9
3	3.73(m)	64.5
4	1.60 (dd, 14.4, 9.2) 2.25 (dd, 14.0, 6.8)	41.5
5	/	71.1
6	/	68.0
7	5.94 (d, 15.6)	127.7
8	5.72 (dd, 15.6, 6.8)	137.1
9	4.40 (ddd, 7.5, 6.4, 0.8)	76.9
10	1.28 (d, 6.4)	20.9
11	1.11 (s)	30.1
12	0.96 (s)	25.1
13	1.18 (s)	20.2
β-glucose		
1´	4.34 (d, 7.6)	102.6
2´	3.17 (dd, 9.2, 7.6)	75.2
3´	3.34 (m)	78.0
4´	3.33 (m)	71.3
5´	3.21 (m)	77.9
6´	3.67 (dd, 12.0, 4.7) 3.80 (dd, 12.0, 2.4)	62.8

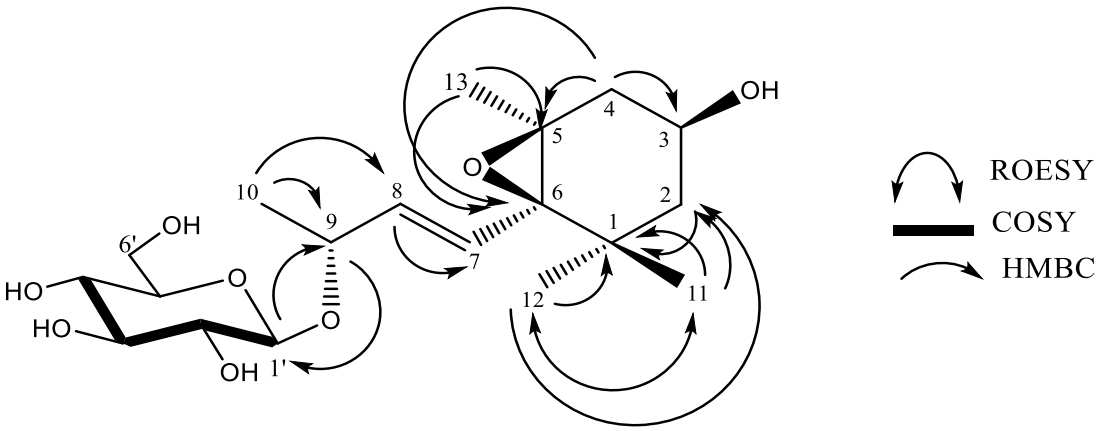


Figure 77: Structure chimique du composé naturel **4.**

3.2.3.2.5 Description du composé 5

3.2.3.2.5.1 Spectrométrie de masse

Le composé **5** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m /z 411.9 $[M + Na]^+$ et un autre à m/z 799.2 $[2M + Na]^+$ ce qui indique une masse moléculaire de 388 (Figure 78). Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{19}H_{32}O_8$.

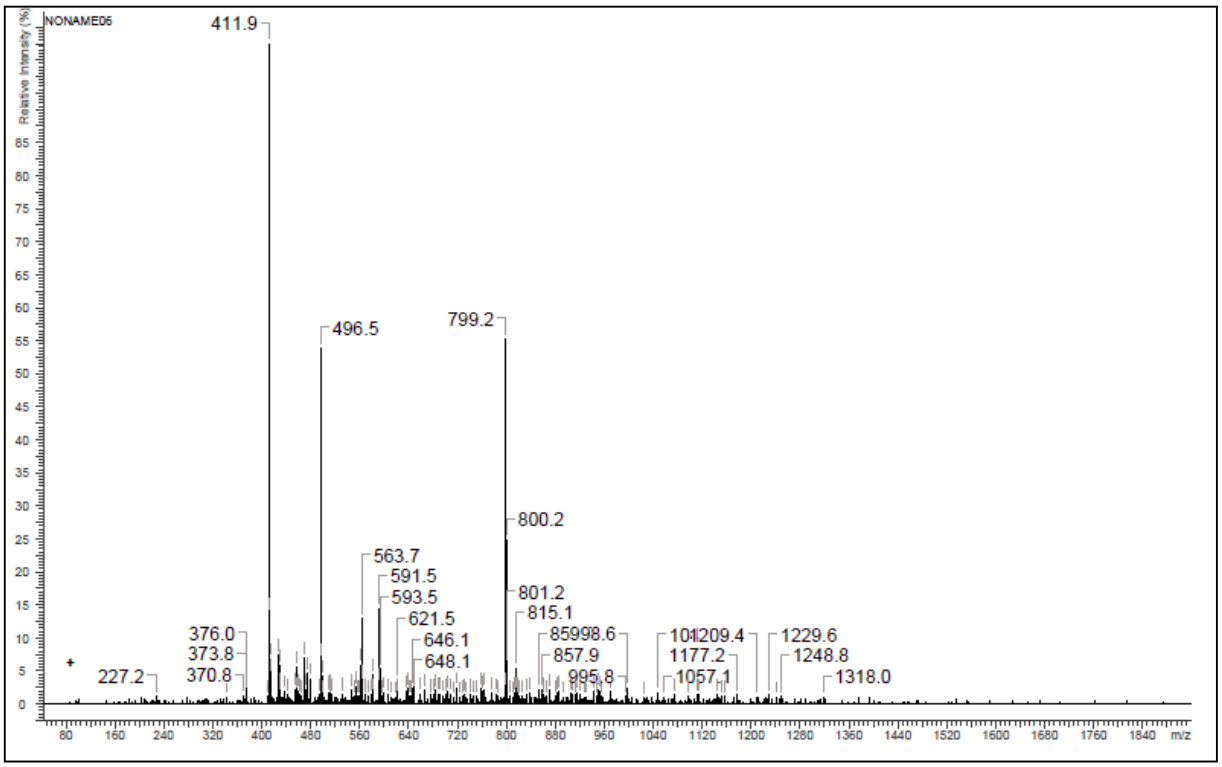


Figure 78: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **5**

3.2.3.2.5.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.5.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN^{13}C avec le DEPT du composé **5** , nous ont permis de mettre en évidence 19 carbones dont quatre méthyles, deux carbones secondaires, trois carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres : HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Figure 79).

Le spectre RMN^{1}H du composé **5** enregistré dans le méthanol montre des signaux de résonance propres à un mégastigmane (Tableau 36). En effet, on observe :

- Un doublet de doublet de doublet résonant à 1.42 ppm caractéristiques du proton H-2
- Un doublet résonant à 3.82 ppm attribué au proton H-4.
- Un doublet et un doublet de doublet résonant à 6.06 et 5.58 correspondants aux protons H-7 et H-8 respectivement
- Un signal sous forme de doublet de doublet de doublet résonant à 4.42 ppm correspondant au proton H-9
- Trois singulets résonant à 1.03 ppm, 1.06 ppm et 1.82 ppm caractéristiques des protons des groupements méthyles H-11, H-12 et H-13.

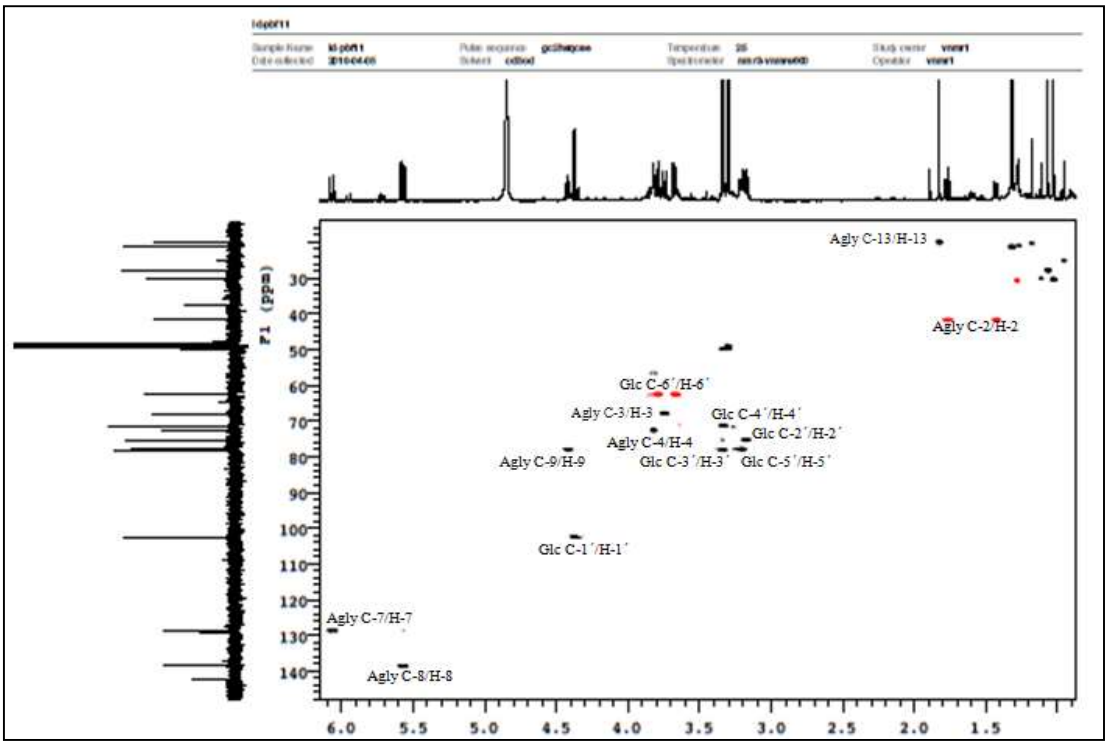


Figure 79 : Spectre HSQC du composé **5.**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC nous a permis d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 4.42 ppm attribué au proton H-9 et le carbone C1′. Ce couplage confirme que le glucose est lié au C-9 de la génine.
- Le proton H-2 avec un carbone quaternaire C-1 et un carbone tertiaire C-3, résonant à 37.7 ppm et 67.9 ppm respectivement.
- Le proton H-13 du groupement méthyle qui résonne à 1,82 ppm et les carbones C-4, C-5 et C-6 à 72.5 ,129.1 et 142.2 ppm respectivement.

3.2.3.2.5.2.2 Détermination du sucre

Le spectre proton montre des signaux caractéristiques d'un hexose. On a constaté la présence du proton anomérique H-1′ résonant sous forme d'un doublet à 4.38 ppm (Figure 79), et des signaux dans l'intervalle entre 3.18 et 3.79 ppm.

L'expérience COSY nous a permis de relier les deux protons H-1′et H-2′, les deux protons H-2′ et H-3′, les deux protons H-4′ et H-5′ et les deux protons H-5′et H-6′.

La corrélation HMBC entre H-1 qui résonne à 4.42 ppm et le carbone C-1′ qui apparait à 102.4 ppm suggère que le glucose est fixé au C-9 de l'aglycone.

Les grandes valeurs des constantes de couplage des protons du sucre indiquent que les protons sont axiaux. Il s'agit donc d'un D glucose de configuration β au regard de la constante de couplage $J_{1\text{-}2}$ = 8.0 Hz.

A la lumière de ces résultats, le composé **5** est un mégastigmane glycoside identifié comme le 5,7 megastigmadiene-3, 4, 9-triol 9-*O*-β-D glucopyranoside nommé **Vajicoside** (Figure 80).

Tableau 36: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **5** (CD_3OD,^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C ppm
Aglycone		
1	/	37.7
2	1.42 (ddd, 12.4, 3.5, 3.2) 1.76 (t, 12.4)	41.6
3	3.74 (dt, 12.8, 4.0)	67.9
4	3.82 (d, 4.0)	72.5
5	/	129.1
6	/	142.2
7	6.06 (d, 16.0)	128.7
8	5.58 (dd, 16.0, 6.8)	138.5
9	4.42 (ddd, 7.6, 6.8, 1.2)	77.8
10	1.32 (d, 6.4)	21.2
11	1.03 (s)	30.3
12	1.06 (s)	27.8
13	1.82 (s)	19.9
β-glucose		
1´	4.38 (d, 8.0)	102.4
2´	3.18 (m)	75.3
3´	3.34 (m)	78.0
4´	3.34 (m)	71.3
5´	3.20 (m)	77.9
6´	3.79 (dd, 11.6, 2.4) 3.67 (dd, 11.6, 5.2)	62.4

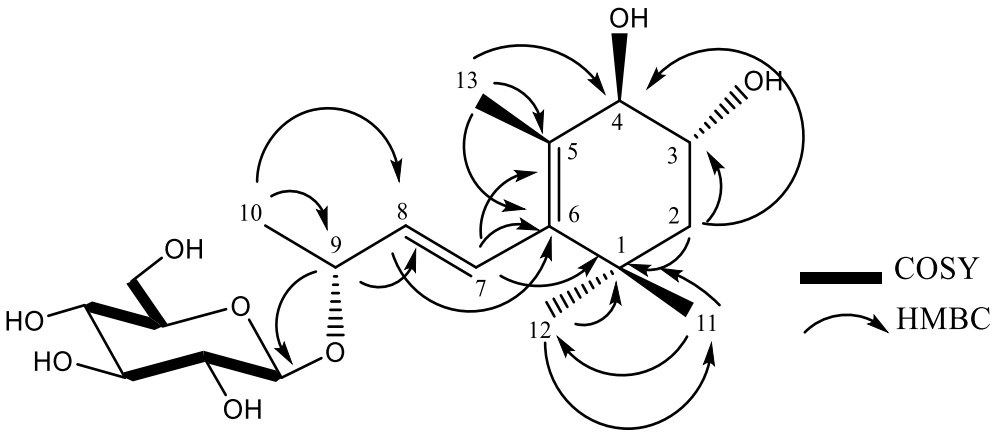


Figure 80: Structure chimique du composé naturel **5**

3.2.3.2.6 Description du composé 6

3.2.3.2.6.1 Spectrométrie de masse

Le composé **6** montre dans le spectre de masse obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 647.8 $[M + Na]^+$(Figure 81). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m/z 624.2 $[M - H]^-$ ce qui indique une masse moléculaire de 624 (Figure 82). Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{29}H_{36}O_{15}$.

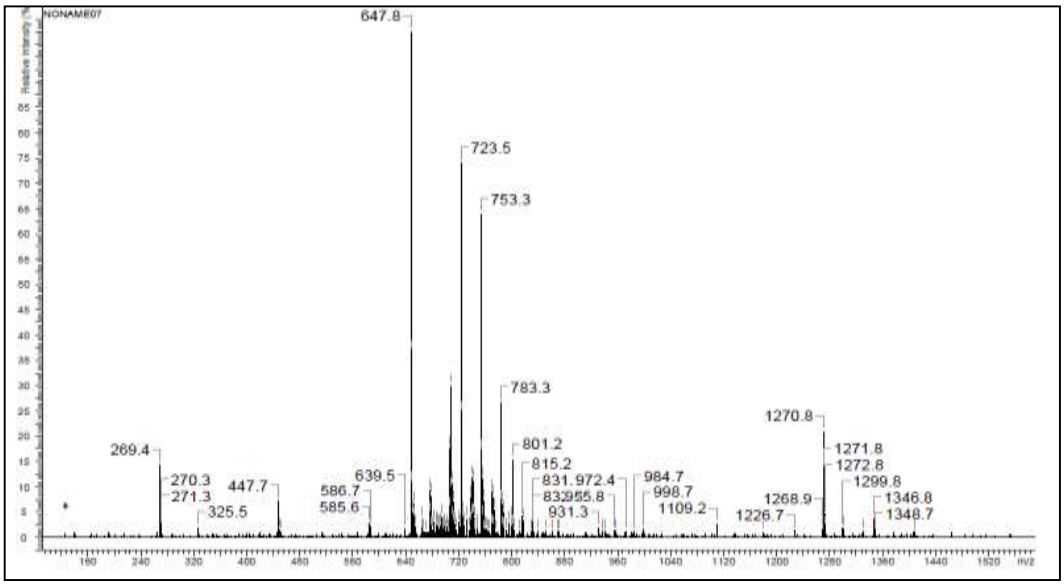


Figure 81 : Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **6**

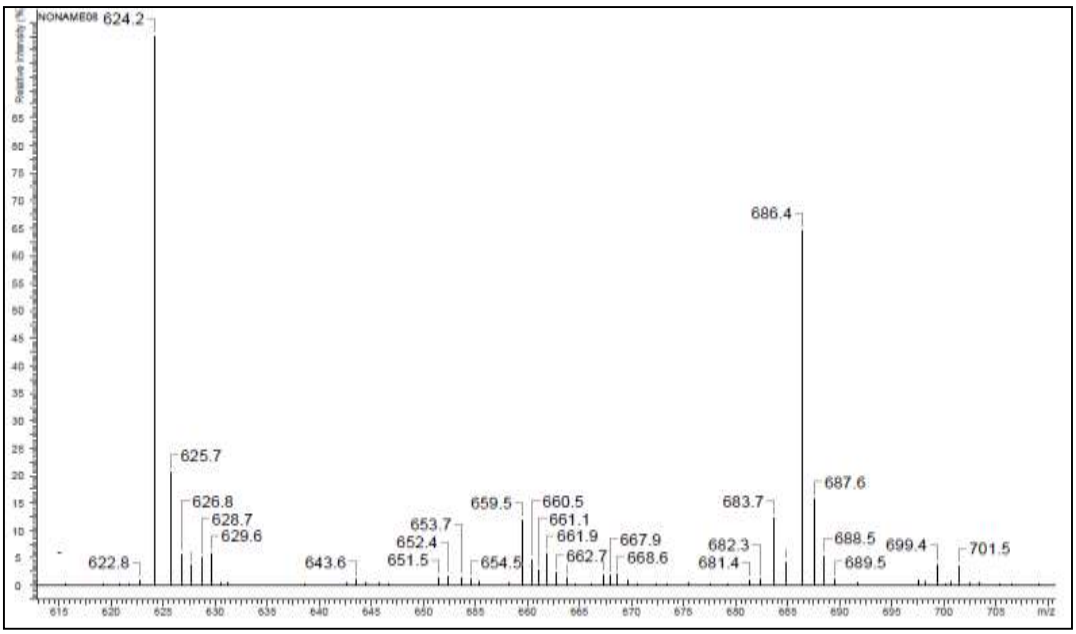


Figure 82: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **6**

3.2.3.2.6.2 Spectroscopie RMN

Le spectre RMN^{13}C avec le DEPT du composé **6** nous ont permis de mettre en évidence 29 carbones dont un méthyle, trois carbones secondaires et sept carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Tableau 37).

3.2.3.2.6.2.1 Détermination de l'aglycone

Le spectre RMN ^{1}H du composé **6** enregistré dans le CD_3OD à 600 MHz montre des signaux de résonance propres à un noyau phényléthanoide (Figure 83). En effet, on observe :

- Un multiplet qui apparait à 2.69 ppm est attribué aux protons β -CH_2 de la chaîne latérale alors que les deux protons de α-CH_2 ne sont pas équivalents et apparaissent sous forme de multiplets à 3.56 et 4.04 ppm.

- Un doublet avec une faible constante de couplage (*J*=2.0) résonant à 6.69 ppm, un doublet à 6.67 ppm (*J*= 8.0 Hz) et un doublet de doublet à 6.65 ppm (*J*=8.0, 2.0 Hz) sont respectivement attribués aux protons H-2, H-5 et H-6 de la partie aglycone.

L'acide caféique porte deux protons oléfiniques en position *trans* apparaissant sous forme de doublets à 7.58 et 6.17 ppm (*J*= 16.0 Hz)

Un doublet avec une faible constante de couplage (*J*=1.6) résonant à 7.02 ppm, un doublet à 6.77 ppm (*J*= 8.0 Hz) et un doublet de doublet à 6.94 ppm (*J*= 8.0, 1.6 Hz) sont respectivement attribués aux protons H-2', H-5' et H-6' du noyau aromatique de l'acide caféique.

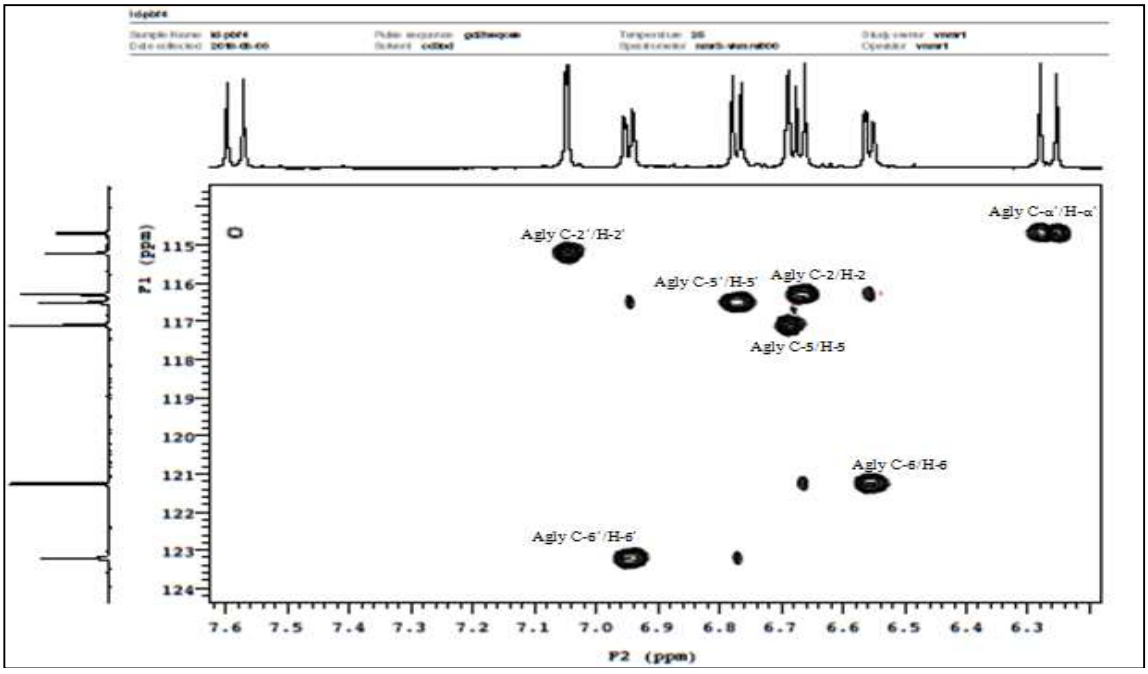


Figure 83 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **6**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 3.56 ppm attribué au proton de l' α -CH_2 et le carbone anomère C-1″du glucose ce qui confirme que la partie aglycone est liée au glucose par le C-1″

- Le proton résonant à 6.66 ppm qui apparait sous forme de doublet, attribué au proton H-5 et les carbones C-1, C-3, C-4, C-6.

- Le proton qui apparait à 6.77 ppm attribué au proton H-5′ et le carbones C-6′

- Le triplet, inhabituellement déblindé du proton H-4″du glucose, résonant à 4.90 ppm indique une jonction en C-4″ avec le carboxyle de l'acide caféique.

3.2.3.2.6.2.2 Détermination des sucres

RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques de deux hexoses. L'expérience HSQC et RMN^{1}H indiquent la présence de deux anoméres. Le proton anomère H-1″ du glucose résonant sous forme d'un doublet à 4.36 ppm (*J*=7.6) et un deuxième proton anomère H-1‴ typique d'un rhamnose qui apparaît à 5.18 ppm avec une petite constante de couplage (*J*=1.2). Le doublet du méthyle H-6‴ du rhamnose est repéré à 1.08 ppm (*J*= 6.4 Hz) (Figure 84).

La constante de couplage élevée $J_{1\text{-}2}$ = 7.6 Hz du doublet du proton anomèriques du glucose résonant à 4.36 ppm indique une β-configuration. L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère H-1″et H-2″ qui résonnent à 4.36 et 3.38 ppm respectivement et le proton anomérique H1‴ et H2‴ résonant à 5.18 et 3.92 ppm respectivement.

La liaison interglucidique a été déterminée par l'observation de l'HMBC entre H-1‴ du rhamnose qui apparait à 5.18 ppm et C-3′ du glucose qui résonne à 81.6 ppm

Ces attributions nous ont permis de conclure que le composé **6** est un phényléthanoide glycoside dont la structure est élucidée au 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)éthyle-3-O-(α-L-rhamnopyranosyl)-4-O-[(2E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]-β-D-glucopyranoside , nommé : le **verbascoside** (Actéoside) (Figure 85).

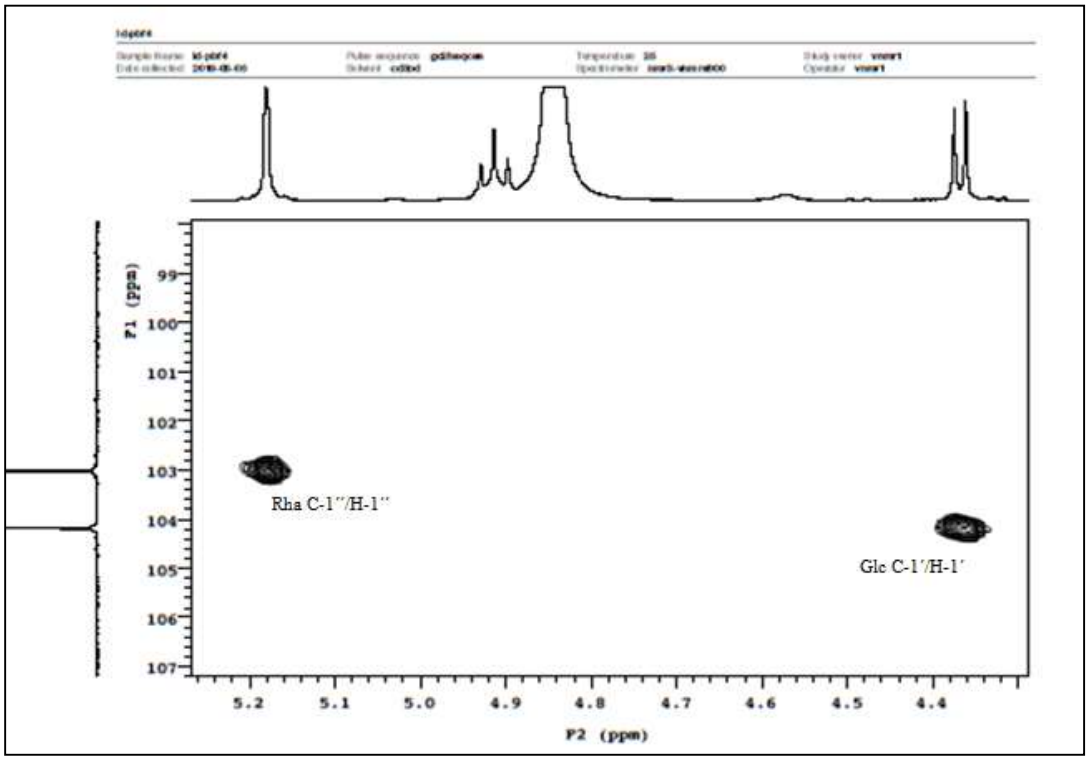


Figure 84 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **6.**

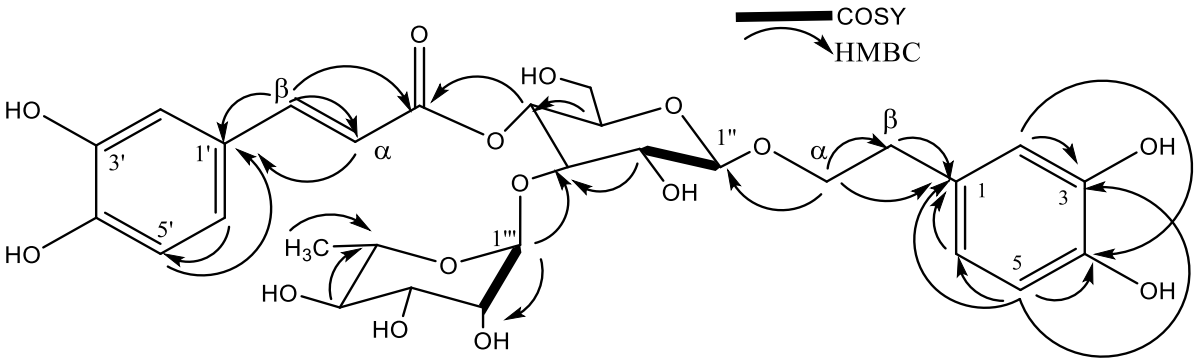


Figure 85: Structure chimique du composé naturel **6**

Tableau 37 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **6** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C (ppm)
Aglycone		
1	/	131.4
2	6.69 (d, 2.0)	117.1
3	/	146.1
4	/	144.4
5	6.66 (d, 8.0)	116.2
6	6.65 (dd, 8.0, 2.0)	121.2
α	3.56 (m)	72.2
	4.03 (m)	
β	2.80 (m)	36.5
β- glucose		
1″	4.36 (d, 7.6)	104.1
2″	3.38 (dd, 9.2, 8.0)	76.1
3″	3.8 (t, 9.2)	81.6
4″	4.9 (m)	70.5
5″	3.52 (m)	76.0
6″	3.52 (m)	62.3
	3.62 (m)	
α-rhamnose		
1‴	5.18 (d, 1.2)	103.0
2‴	3.92 (dd, 2.8, 1.6)	72.3
3‴	3.56 (m)	72.0
4‴	3.29 (m)	73.7
5‴	3.55 (m)	70.4
6‴	1.08 (d, 6.4)	18.4
Acide caféique		
1′	/	127.6
2′	7.05 (d, 1.6)	115.2
3′	/	146.8
4′	/	149.7
5′	6.77 (d, 8.0)	116.5
6′	6.94 (dd, 8.0, 1.6)	123.2
α′	6.27 (d, 15.6)	114.6
β′	7.58 (d, 15.6)	148.0
C=O	/	168.2

3.2.3.2.7 Description du composé 7

3.2.3.2.7.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **7** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 807.7 $[M + Na]^+$ (Figure 86). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 784.3 $[M - H]^-$ (Figure 87), ce qui indique une masse moléculaire de 784. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{36}H_{48}O_{19}$.

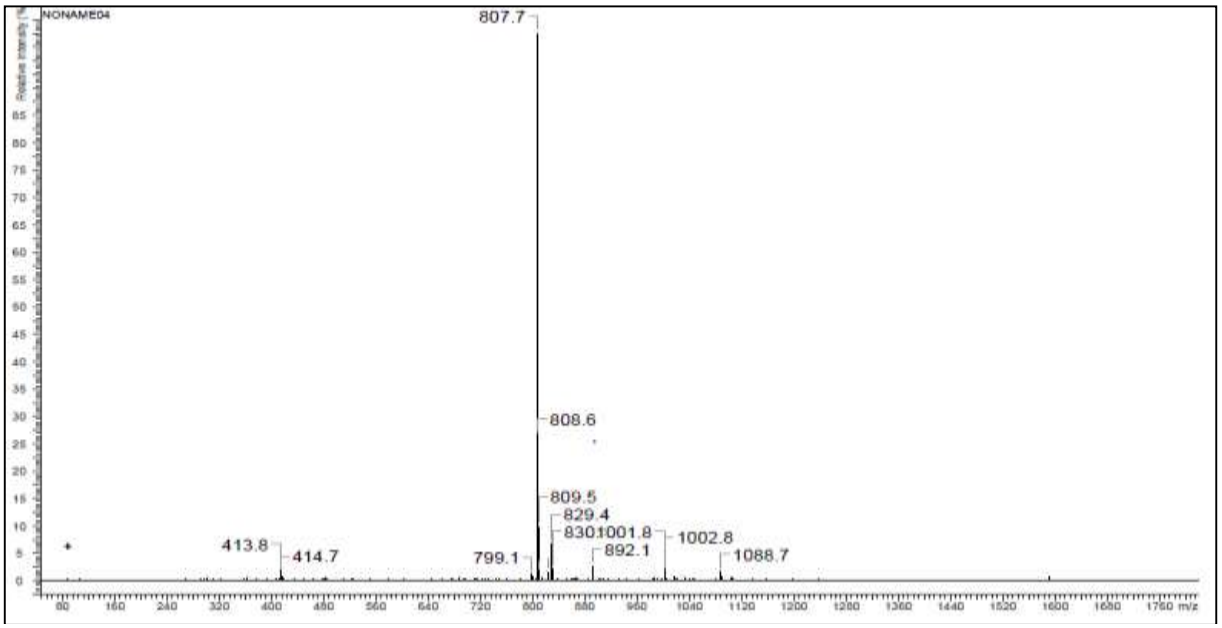


Figure 86: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **7**

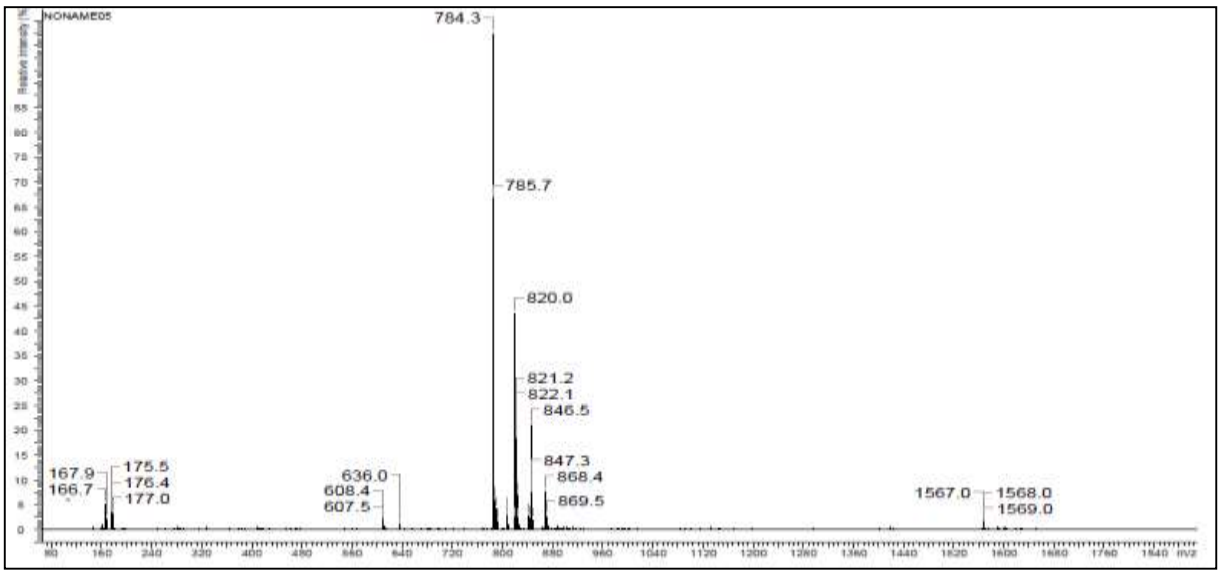


Figure 87 : Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **7**

3.2.3.2.7.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.7.2.1 Détermination de la génine

Les données du spectre mono et bidimensionnel enregistré dans le CD_3OD (Figure 88) indiquent la présence des mêmes signaux que ceux de la génine du composé **8** (Tableau 38), cependant, le RMN ^{13}C montre deux signaux de méthoxy en plus qui résonnent à 55,4 ppm.

Dans le spectre ROESY, le signal de l'un des méthoxy à 3.81 ppm est corrélé avec l'un des protons aromatiques H-5 qui résonne à 6.82 ppm (d, J = 8,4 Hz) de la partie aglycone, et le deuxième méthoxy à 3.88 ppm est corrélé avec H-2′ l'acide ferulique qui résonne à 7.18 ppm (d, J = 1.6 Hz). Ceux-ci suggèrent que le méthoxy de la partie aglycone est fixé en C-4 et celui de l'acide ferulique est fixé en C-3′.

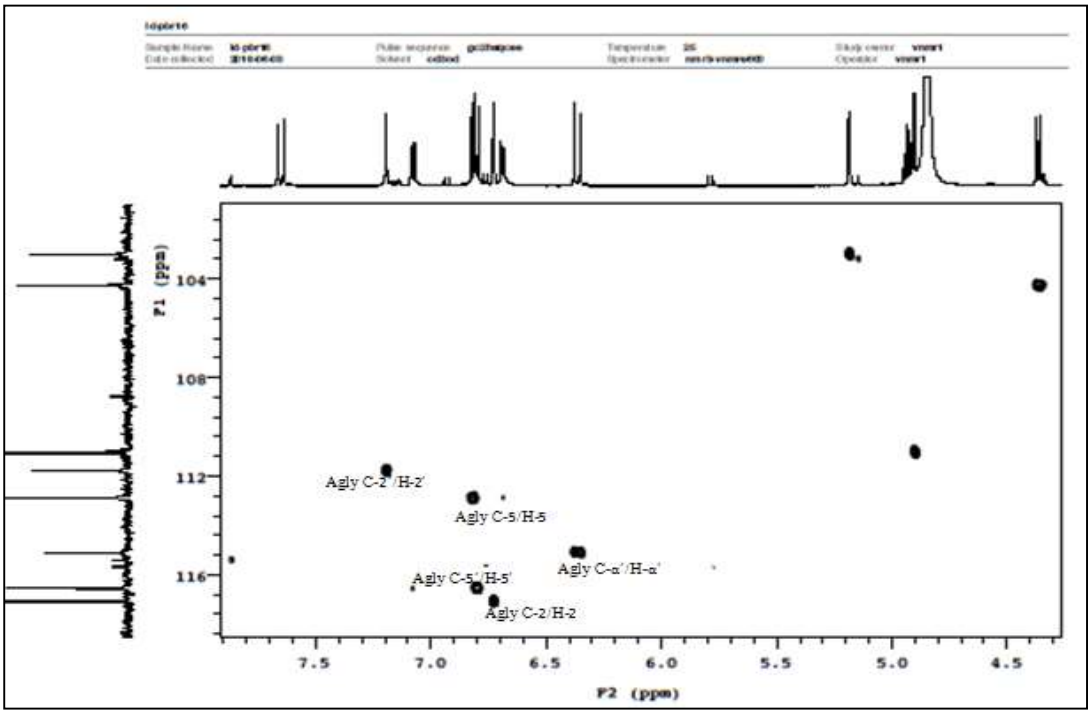


Figure 88 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **7**

3.2.3.2.7.2.2 Détermination des sucres

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques de deux hexoses et un pentose. L'expérience HSQC et RMN^{1}H indiquent la présence de trois anoméres. Le proton anomère H-1″ du glucose résonant sous forme d'un doublet (J=7.3) à 4,36 ppm.

Le deuxième proton anomérique H-1‴ typique d'un rhamnose qui apparaît à 5.18 ppm avec une petite constante de couplage (J=1.6) et son doublet du méthyle H-6‴ est repéré à 1.09 ppm (J= 6.4 Hz). Le troisième proton anomérique H-1′′′ de l'Apiose qui résonne sous forme d'un doublet à 4.90 (J=2.4) (Figure 89).

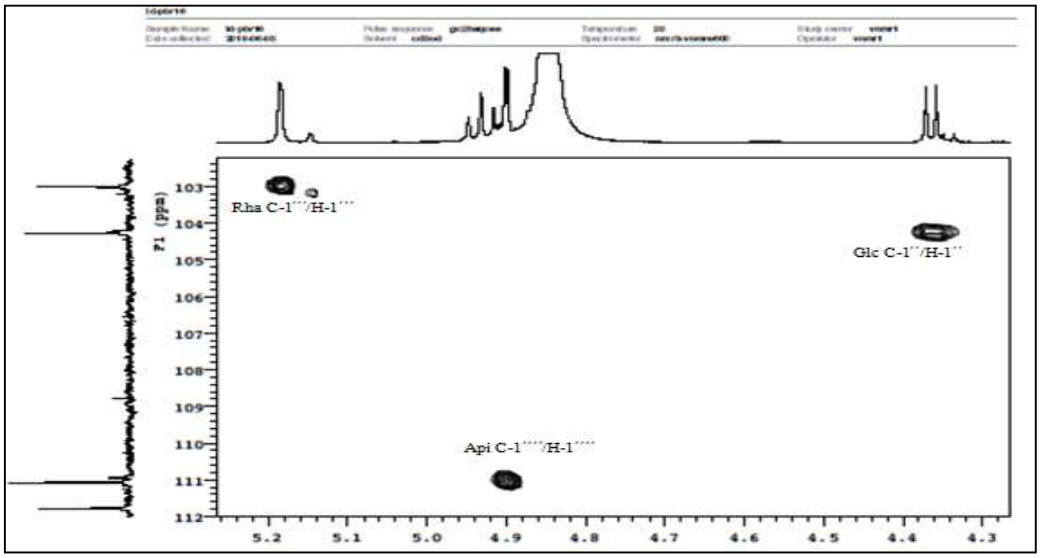


Figure 89 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **7.**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″ et H-2″ résonants à 4.36 et 3.38 ppm, le proton anomérique du rhamnose H-1‴et H-2‴ résonants à 5.18 et 3.90 ppm et le troisième proton anomérique de l'apiose H-1⁗ et H-2⁗ qui résonnent à 4.90 et 3.86 ppm respectivement.

La liaison interglucidique a été déterminée par l'observation de l'HMBC entre le proton H-1‴ du rhamnose qui apparait à 5.18 ppm et le C-3″ du glucose qui résonne à 81.6 ppm, ainsi, qu'entre les deux protons H-6″ du glucose résonant à 3.49 et 3.72 avec le C-1⁗ de l'apiose qui apparait à 111.0 ppm.

A la lumière de ces résultats obtenus, le composé **7** est un phényléthanoide glycoside identifié comme **Leucosceptoside B** (Figure 90).

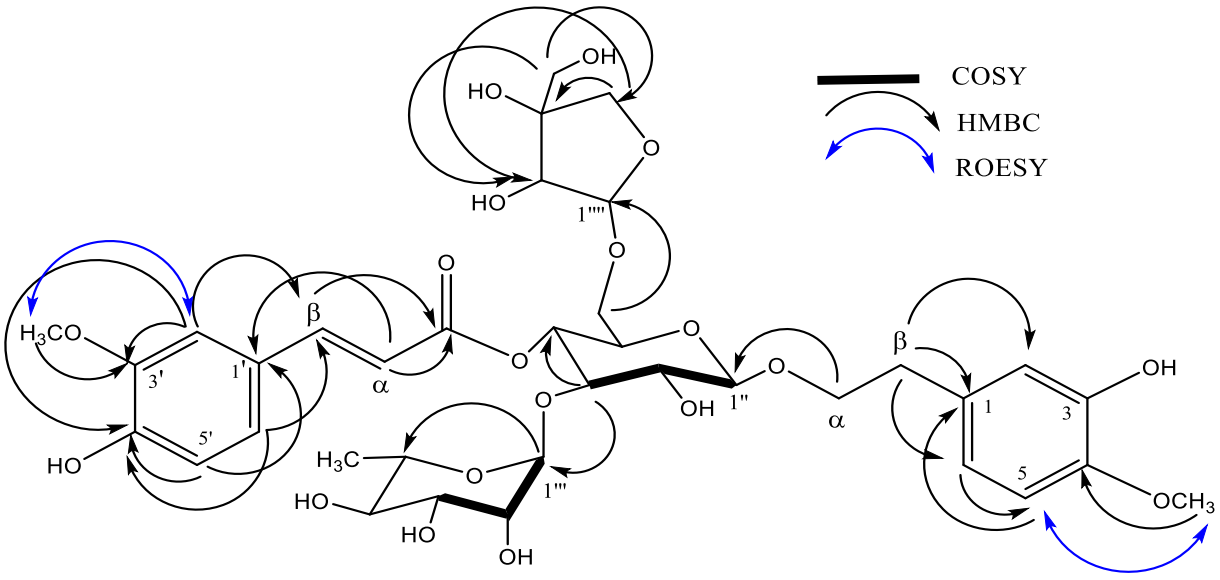


Figure 90: Structure chimique du composé naturel **7**

Tableau 38: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **7** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C ppm
Aglycone		
1	/	132.9
2	6.73 (d, 2.0)	117.0
3	/	147.3
4	/	147.5
5	6.82 (d, 8.4)	112.8
6	6.69 (dd, 8.0, 2.0)	121.0
α	3.74 (m)	72.2
	4.04 (m)	
β	2.82 (m)	36.5
4-OCH_3	3.81 (s)	56.4
β- glucose		
1″	4.36 (d, 7.3)	104.2
2″	3.38 (m)	76.1
3″	3.80 (m)	81.6
4″	4.92 (t, 9.6)	70.9
5″	3.70 (m)	74.6
6″	3.49 (m)	68.4
	3.72 (m)	
α-rhamnose		
1‴	5.18 (d, 1.6)	103.0
2‴	3.90 (m)	72.3
3‴	3.56 (m)	72.0
4‴	3.30 (nd)	73.7
5‴	3.56 (m)	70.4
6‴	1.09 (d, 6.4)	18.4
β-apiose		
1⁗	4.90 (d, 2.4)	111.0
2⁗	3.86 (d, 2.0)	78.1
3⁗	/	80.6
4⁗	3.71 (d, 9.6)	75.0
	3.91 (d, 9.6)	
5⁗	3.52 (s)	65.6
Acide ferulique		
1′	/	127.6
2′	7.18 (d, 1.6)	111.7
3′	/	149.4
4′	/	150.1
5′	6.80 (d, 8.0)	116.5
6′	7.08 (dd, 8.0, 2.0)	124.0
α′	6.36 (d, 16.0)	115.0
β′	7.65 (d, 15.6)	147.9
C=O	/	168.1
3′-OCH_3	3.88 (s)	56.8

3.2.3.2.8 Description du composé 8

3.2.3.2.8.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **8** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 780.0 $[M + Na]^+$(Figure 91). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 756.6 $[M - H]^-$ (Figure 92), ce qui indique une masse moléculaire de 756. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{34}H_{44}O_{19}$.

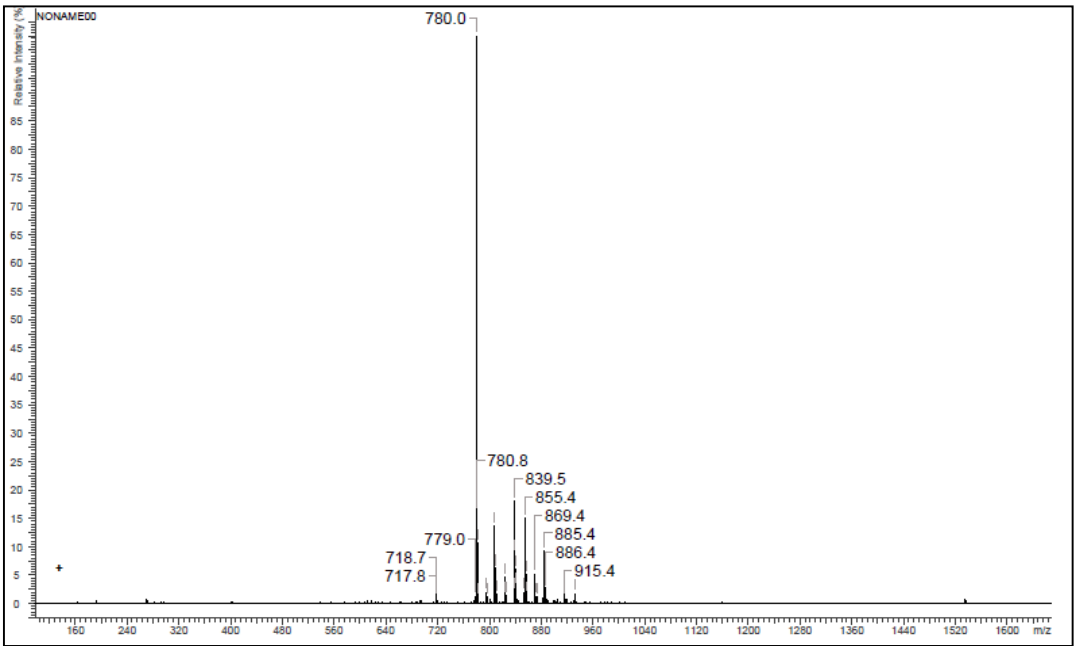


Figure 91: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **8**

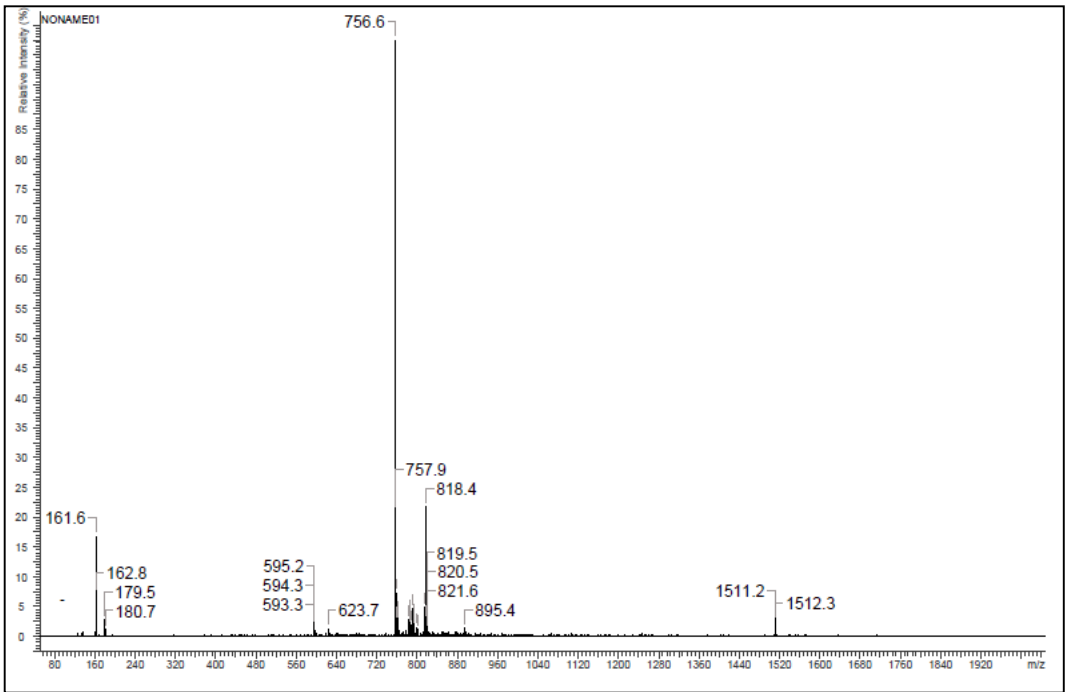


Figure 92: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **8**

3.2.3.2.8.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.8.2.1 Détermination de la génine

Les données du spectre mono et bidimensionnel (Figure 93) indiquent la présence des mêmes signaux que ceux de la génine du composé **6** (Tableau 39).

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- Le proton résonant à 3.99 ppm attribué au proton de l'α-CH_2 et le carbone anomérique C1″ du glucose, ce qui confirme que la partie aglycone est liée au glucose par le C-1″.
- Le triplet, inhabituellement déblindé du proton H-4″ du glucose, résonant à 4.92 ppm indique une jonction en C-4' avec la fonction carboxyle de l'acide caféique.

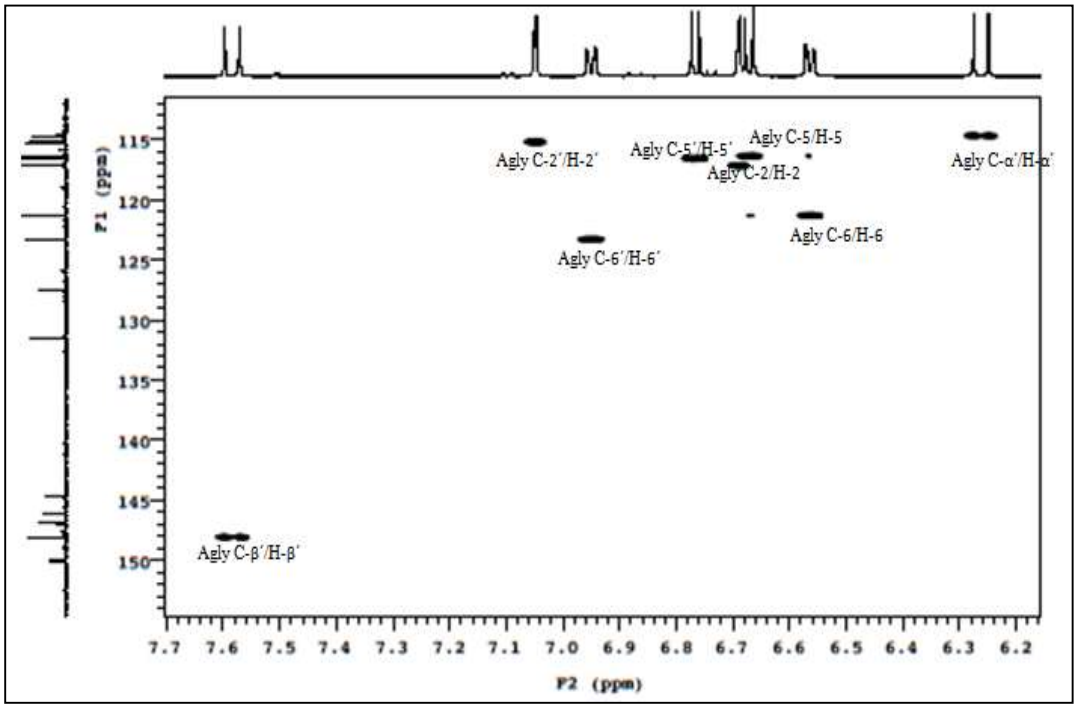


Figure 93 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **8**

3.2.3.2.8.2.2 Détermination des sucres

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques de deux hexoses et un pentose. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence de trois anoméres. Le proton anomère H-1″ du glucose résonant sous forme d'un doublet (*J*=7.6) à 4,36 ppm.

Le deuxième proton anomérique H-1‴ typique d'un rhamnose qui apparaît à 5.17 ppm avec une petite constante de couplage (*J*=1.6) et son doublet du méthyle H-6‴ est repéré à 1.08 ppm (*J*= 6.43 Hz). Le troisième proton anomérique H-1⁗ de l'apiose qui résonne sous forme d'un doublet à 4.90 (*J*=2.4) (Figure 94).

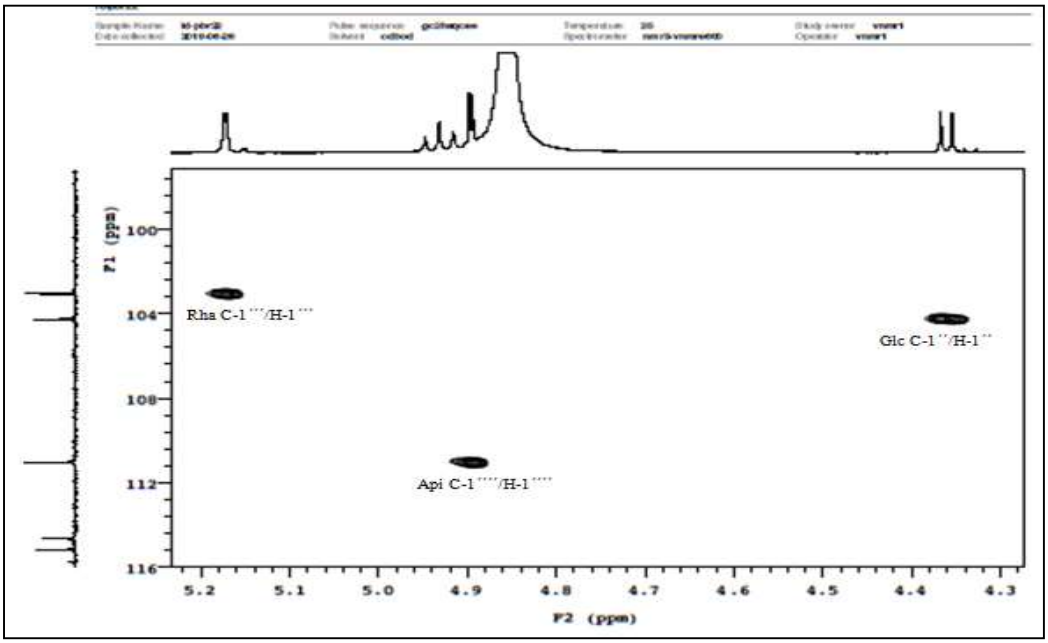


Figure 94 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **8.**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″ et H-2″ résonants à 4.36 et 3.37 ppm et le proton anomérique du rhamnose H-1‴et H-2‴ résonant à 5.17 et 3.90 ppm et le troisième proton anomérique de l'apiose H-1⁗ et H-2⁗ qui résonnent à 4.90 et 3.86 ppm respectivement.

La liaison interglucidique a été déterminée par l'observation de l'HMBC entre le proton H-1‴ du rhamnose qui apparait à 5.17 ppm et C-3″ du glucose qui résonne à 81.6 ppm, ainsi qu'entre les deux protons H-6″ du glucose résonant à 3.48 et 3.71 avec le C-1⁗ de l'apiose qui apparait à 111.0 ppm.

Sur la base de ces résultats, le composé **8** est un phényléthanoide glucoside identifié comme le **Forsythoside B** (Figure 95).

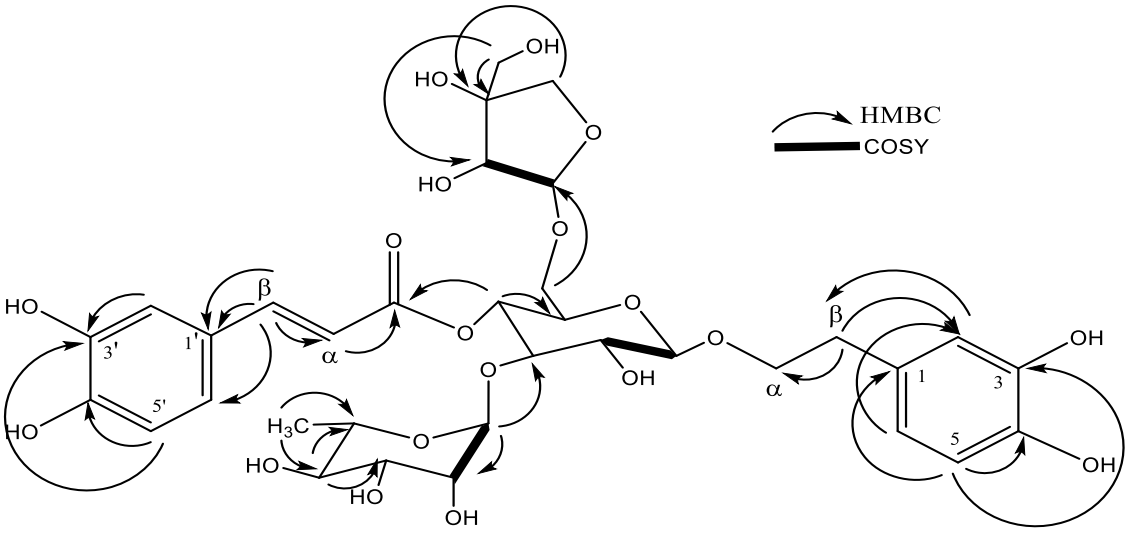


Figure 95: Structure chimique du composé naturel **8**

Tableau 39 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **8** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	131.4
2	6.69 (d, 2.0)	117.1
3	/	146.1
4	/	144.6
5	6.67 (d, 8.0)	116.3
6	6.56 (dd, 8.0, 2.0)	121.2
α	3.71 (m)	72.3
	3.99 (m)	
β	2.78 (m)	36.6
β- glucose		
1″	4.36 (d, 7.6)	104.2
2″	3.37 (t, 8.0)	76.1
3″	3.80 (t, 9.2)	81.6
4″	4.92 (t, 9.2)	70.8
5″	3.69 (m)	74.6
6″	3.48 (m)	68.4
	3.71 (m)	
α-rhamnose		
1‴	5.17 (d, 1.6)	103.0
2‴	3.90 (m)	72.3
3‴	3.56 (dd, 9.6, 3.2)	72.0
4‴	3.28 (t, 9.6)	73.7
5‴	3.55 (dd, 9.6, 3.2)	70.4
6‴	1.08 (d, 6.4)	18.4
β-Apiose		
1⁗	4.90 (d, 2.4)	111.0
2⁗	3.86 (d, 2.4)	78.0
3⁗	/	80.6
4⁗	3.72 (d, 9.6)	75.0
	3.90 (d, 9.6)	
5⁗	3.53 (s)	65.4
Acide caféique		
1′	/	127.5
2′	7.05 (d, 2.0)	115.1
3′	/	146.9
4′	/	150.0
5′	6.76 (d, 8.0)	116.5
6′	6.95 (dd, 8.0, 2.0)	123.2
α′	6.27 (d, 16.0)	114.6
β′	7.58 (d, 16.0)	148.0
C=O	/	168.1

3.2.3.2.9 Description du composé 9

3.2.3.2.9.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **9** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 759.6 $[M + Na]^+$ (Figure 96). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 735.7 $[M - H]^-$ (Figure 97) ce qui indique une masse moléculaire de 736. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{35}H_{44}O_{17}$.

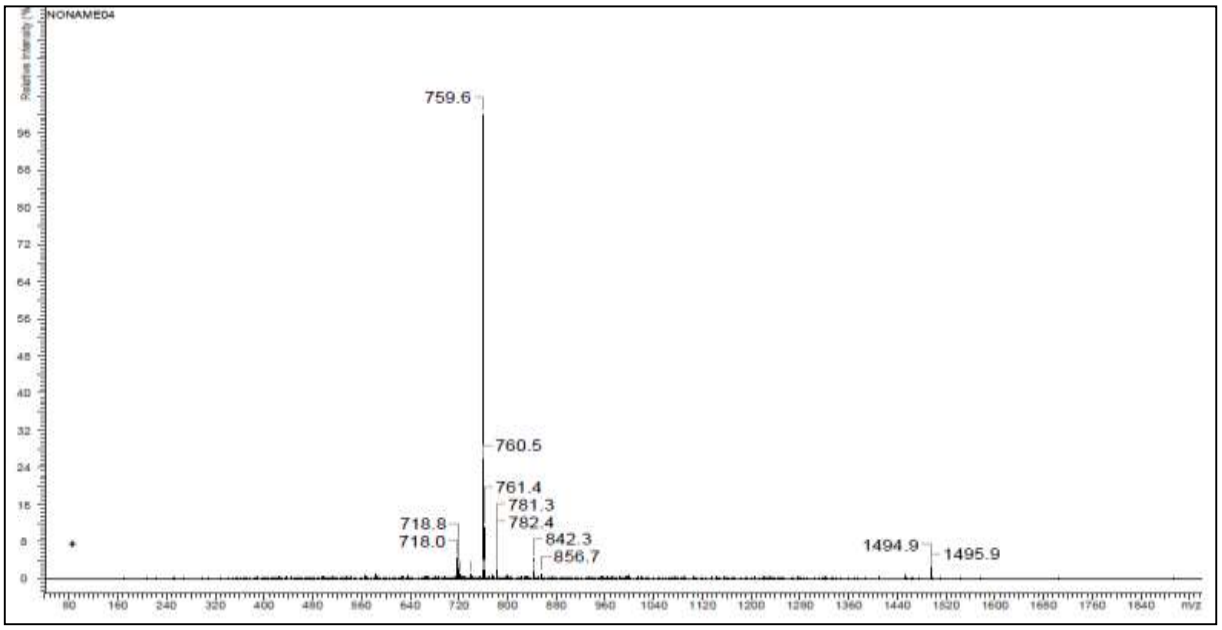


Figure 96: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **9**

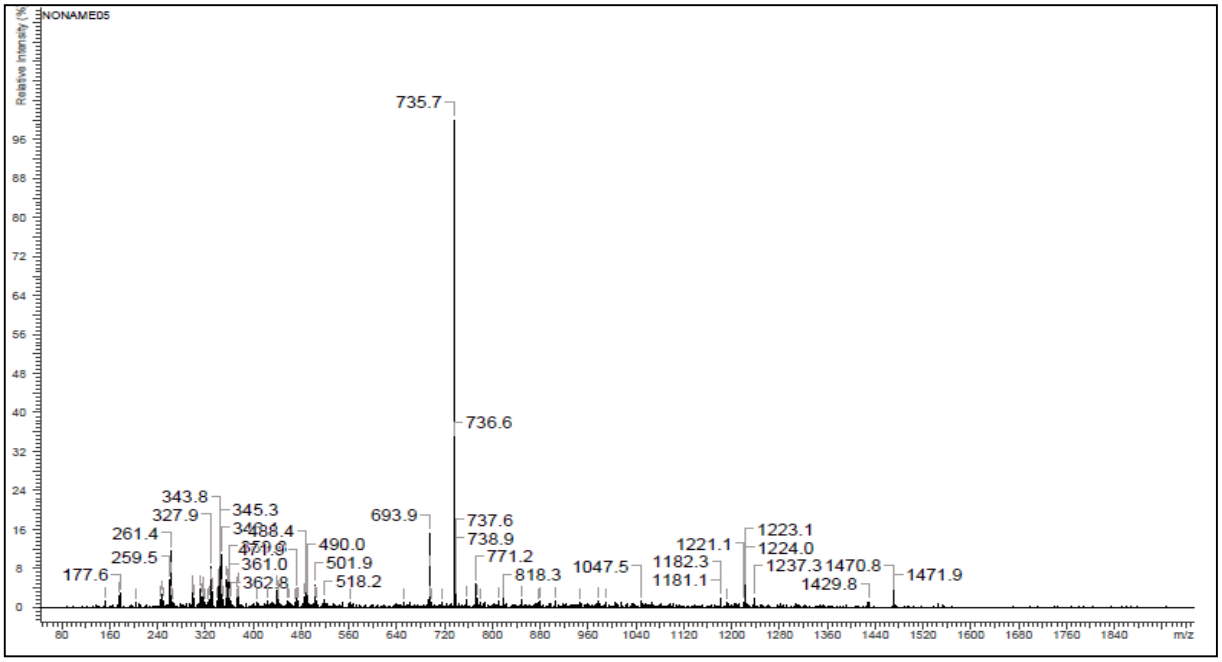


Figure 97: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **9**

3.2.3.2.9.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.9.2.1 Détermination de la génine

Les données du spectre mono et bidimentionnels (Figure 98) enregistré dans le $CDCl_3$ indiquent la présence des mêmes signaux que ceux de la génine du composé **6** (Tableau 40), cependant, le RMN ^{13}C montre en plus deux signaux de méthoxy qui résonnent à 55.9 ppm.

Dans le spectre ROESY, le signal de l'un des méthoxy à 3.86 ppm est corrélé avec l'un des protons aromatiques H-5 qui résonne à 6.78 ppm (d, *J* = 8,4 Hz) de la partie aglycone, et le deuxième méthoxy à 3,92 ppm est corrélé avec H-2′ de l'acide ferulique qui résonne à 7.04 ppm (d, *J* = 1.6 Hz). Ceux-ci suggèrent que le méthoxy de la partie aglycone est fixé en C-4 et celui de l'acide ferulique est fixé en C-3′.

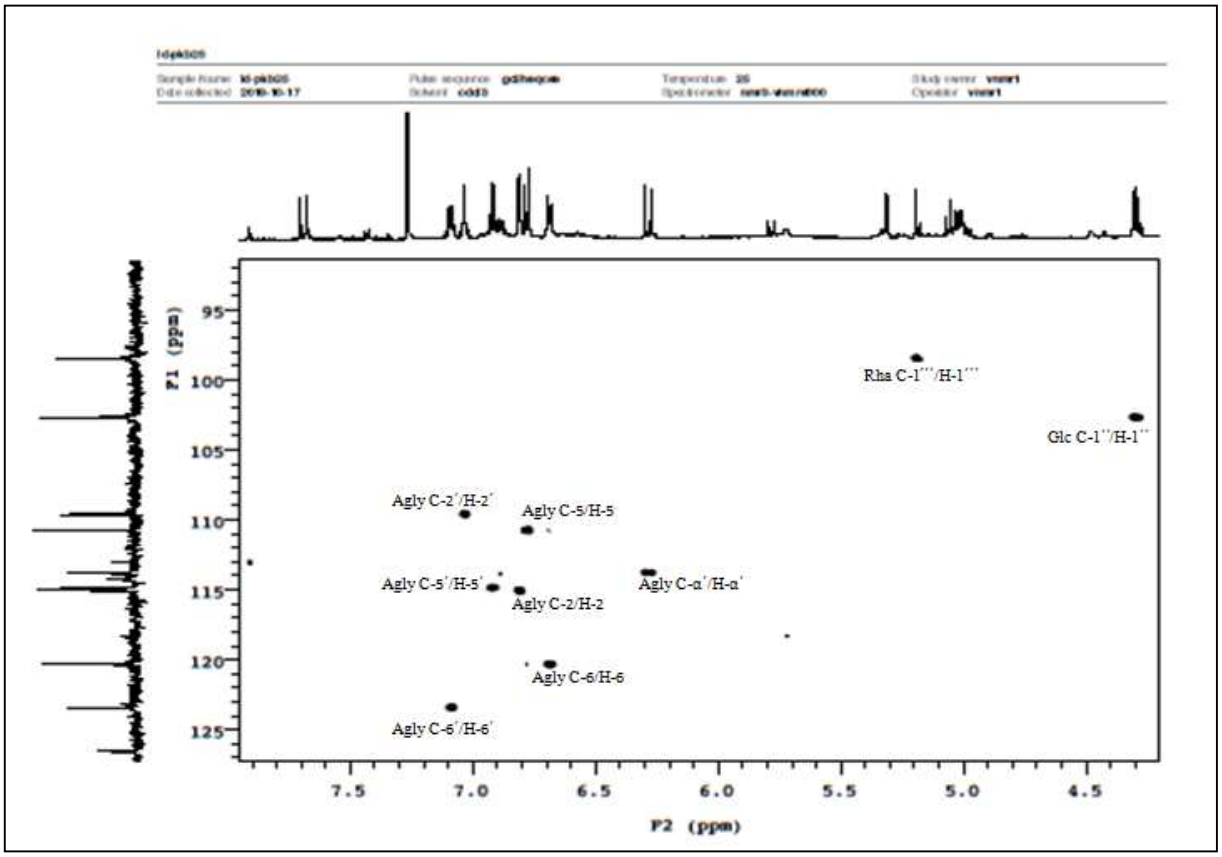


Figure 98 : Spectre HSQC du composé **9.**

3.2.3.2.9.2.2 Détermination des sucres

Le spectre RMN^{13}C montre des signaux caractéristiques de deux hexoses. L'expérience HSQC et RMN^{1}H indiquent la présence de deux anoméres. Le proton anomère H-1″ du glucose résonant sous forme d'un doublet à 4.30 ppm (*J*=8.0), et un autre proton anomère H-2‴ typique d'un rhamnose qui apparaît à 5.19 ppm avec une petite constante de couplage (*J*=1.2) (Figure 98). Le doublet du méthyle H-6‴ du rhamnose est repéré à 1.23 ppm (*J*= 6.0 Hz).

La constante de couplage $J_{1\text{-}2}$ =8.0 Hz du doublet du proton anomérique du glucose résonant à 4.36 ppm indique une β-configuration.

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère H1″et H2″ résonants à 4.30 et 3.58 ppm et le proton anomérique H-1‴ et H-2‴ résonant à 5.19 et 5.31 ppm respectivement.

La liaison interglucidique a été déterminée par l'observation de l'HMBC entre H-1‴ du rhamnose qui apparait à 5.18 ppm et C-3´ du glucose qui résonne à 79.2 ppm.

Le spectre RMN ^{13}C nous a indiqué la présence de deux groupes acétyles qui sont fixés sur les deux protons H-2‴ et H-3‴ du rhamnose qui résonnent à 5.31 (dd, 3.2, 2.0) et 5.02 (m) respectivement.

Sur la base de ces résultats, le composé **9** est un phényléthanoide glycoside et a été identifié comme le **Clerodenoside A** ou **diacetylmartynoside** (Figure 99).

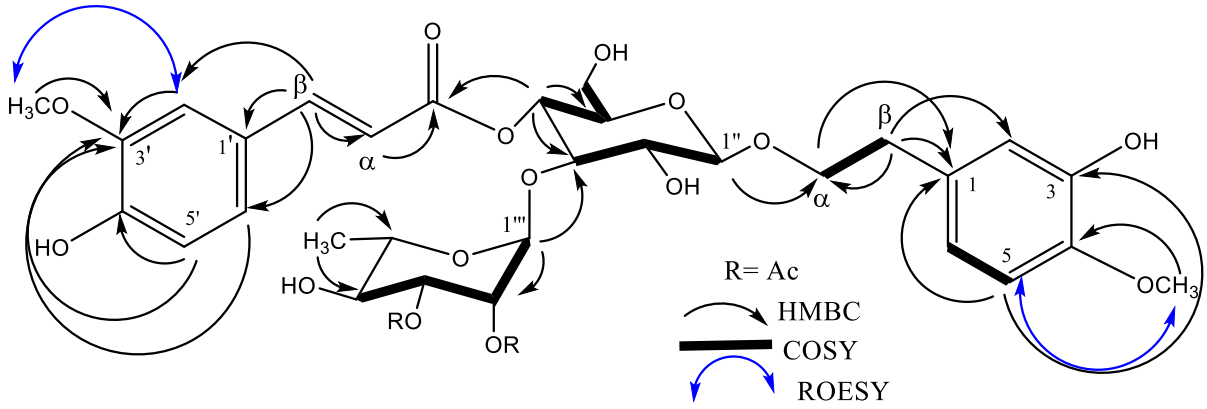


Figure 99: Structure chimique du composé naturel **9**

Tableau 40: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **9** ($CDCl_3$, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	131.4
2	6.81 (d, 2.0)	115.0
3	/	145.5
4	/	145.2
5	6.78 (d, 8.4)	110.0
6	6.68 (dd, 8.0, 2.0)	120.3
α	3.70 (m)	70.9
	4.12 (m)	
β	2.83(m)	35.3
4-OCH_3	3.86 (s)	55.9
β- glucose		
1″	4.30 (d, 8.0)	102.6
2″	3.58 (overl)	74.7
3″	3.86 (overl)	79.2
4″	5.04 (t, 9.6)	68.9
5″	3.44 (m)	74.4
6″	3.61 (dd, 12.8, 4.8)	61.3
	3.73 (m)	
α-rhamnose		
1‴	5.19 (d, 1.2)	98.4
2‴	5.31 (dd, 3.2, 2.0)	70.1
3‴	5.02 (m)	72.1
4‴	3.52 (t, 9.6)	71.2
5‴	3.76 (m)	69.0
6‴	1.23 (d, 6.0)	17.7
-COO	/	170.0
-COO	/	171.3
-CH_3	2.10 (s)	20.9
-CH_3	2.02 (s)	20.9
Acide ferulique		
1′	/	126.0
2′	7.04 (d, 1.6)	109.5
3′	/	146.8
4′	/	148.4
5′	6.91 (d, 8.4)	114.8
6′	7.08 (dd, 8.4, 2.0)	123.4
α′	6.28 (d, 16.0)	113.7
β′	7.69 (d, 16.0)	147.0
C=O	/	166.8
3′-OCH_3	3.92 (s)	55.9

3.2.3.2.10 Description du composé 10

3.2.3.2.10.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **10** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 807.8 $[M + Na]^+$(Figure 100). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 783.8 $[M - H]^-$ (Figure 101), ce qui indique une masse moléculaire de 784. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{36}H_{48}O_{19}$.

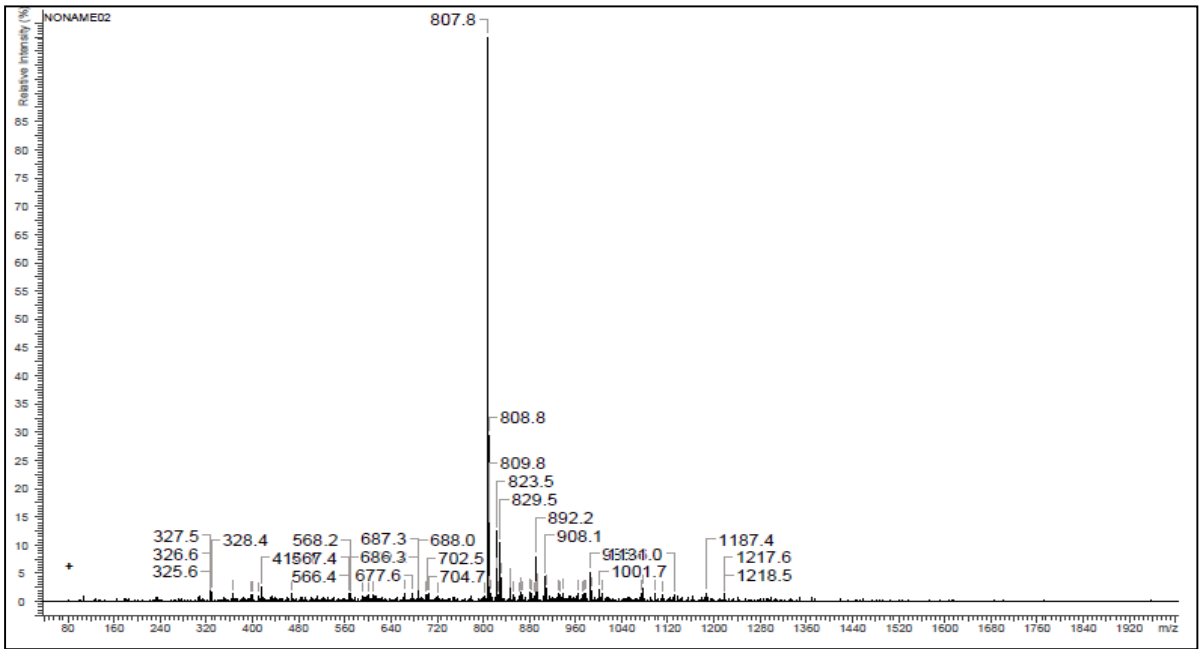


Figure 100: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **10**

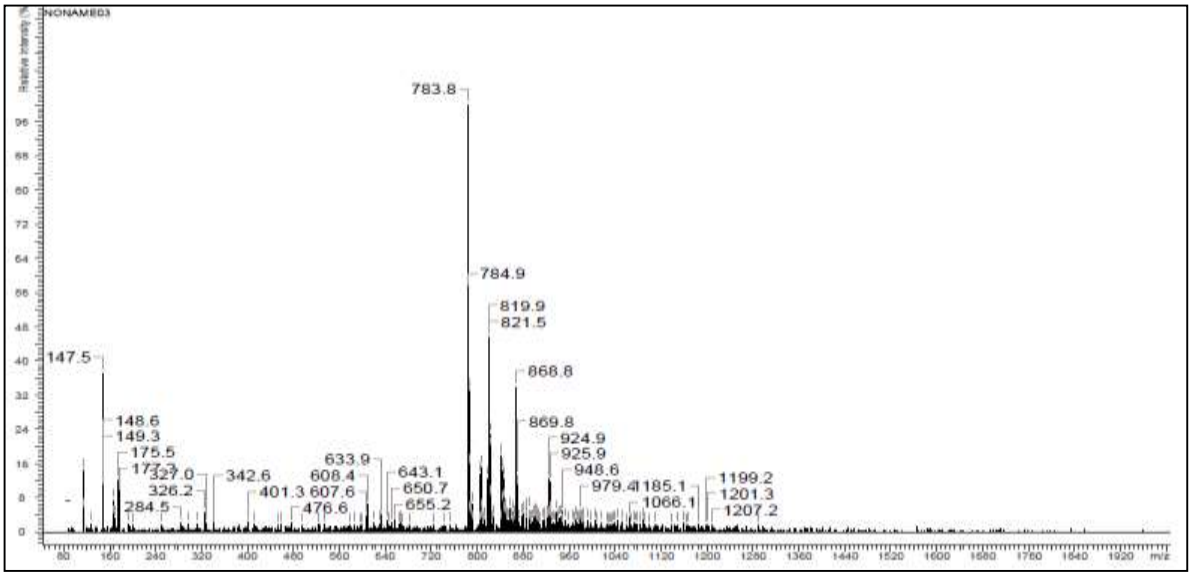


Figure 101: Spectre de masse ESI-MS en mode négatif du composé **10**

3.2.3.2.10.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.10.2.1 Détermination de la génine

Les données du spectre mono et bidimentionnels (Figure 102) indiquent la présence des mêmes signaux que ceux de la génine du composé **6**, cependant, le RMN^{13}C montre en plus deux signaux de méthoxy qui résonnent à 56.4 ppm et 56.5 ppm. Dans le spectre ROESY, le signal du méthoxy à 3,80 ppm est corrélé à l'un des protons aromatiques H-5 qui résonne à 6.82 ppm (d, *J* = 8,0 Hz) de la partie aglycone, et l'autre signal du deuxième méthoxy à 3,88 ppm est corrélé à H-2′ qui résonne à 7.19 ppm (d, *J* = 2.4 Hz) de l'acide ferulique ,ceux-ci suggèrent que le méthoxy de la partie aglycone est fixé en C-4 et celui de l'acide férulique est fixé en C-3′.

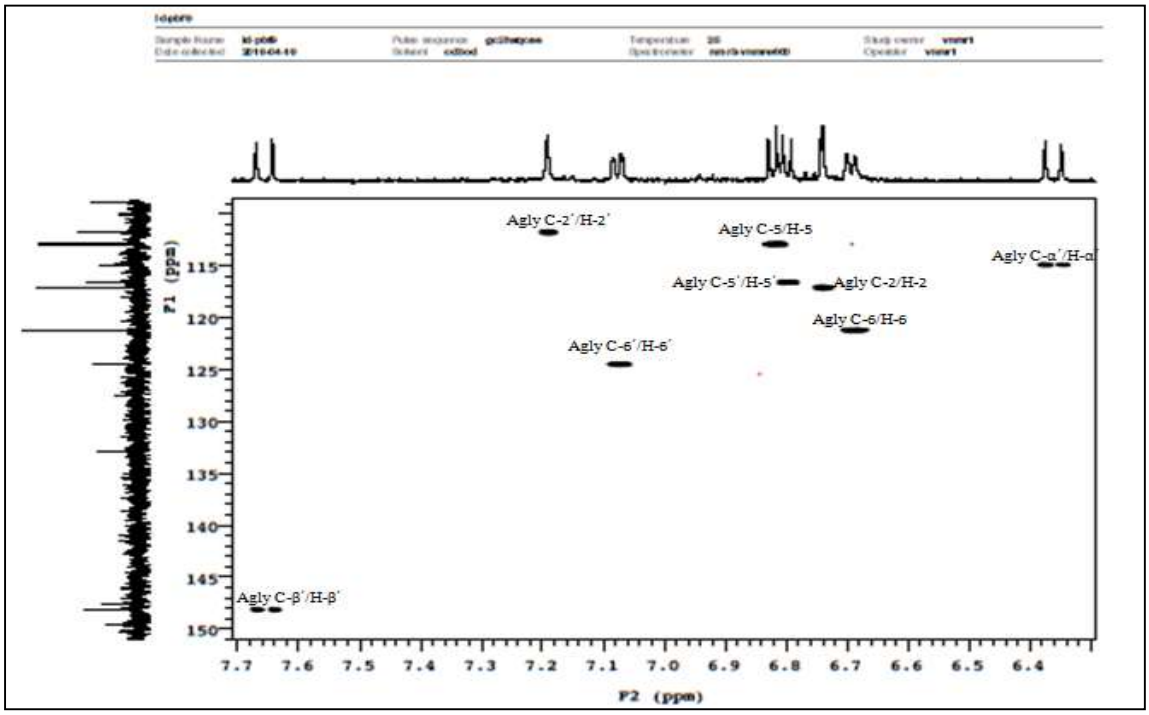


Figure 102 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **10**

3.2.3.2.10.2 Détermination des sucres

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques de deux hexoses et un pentose. Les expériences HSQC et RMN^{1}H indiquent la présence de trois anoméres. Le proton anomérique H1″ du glucose résonant sous forme d'un doublet (*J*=7.2) à 4.24 ppm.

Le deuxième proton anomérique H-1‴ typique d'un rhamnose qui apparaît à 5.18 ppm avec une petite constante de couplage (*J*=1.6) et son doublet du méthyle H-6‴ est repéré à 1.08 ppm (*J*= 6.0 Hz). Le troisième proton anomérique H-1′′′ du xylose qui résonne sous forme d'un doublet à 4.38 (*J*=8.0) (Figure 103).

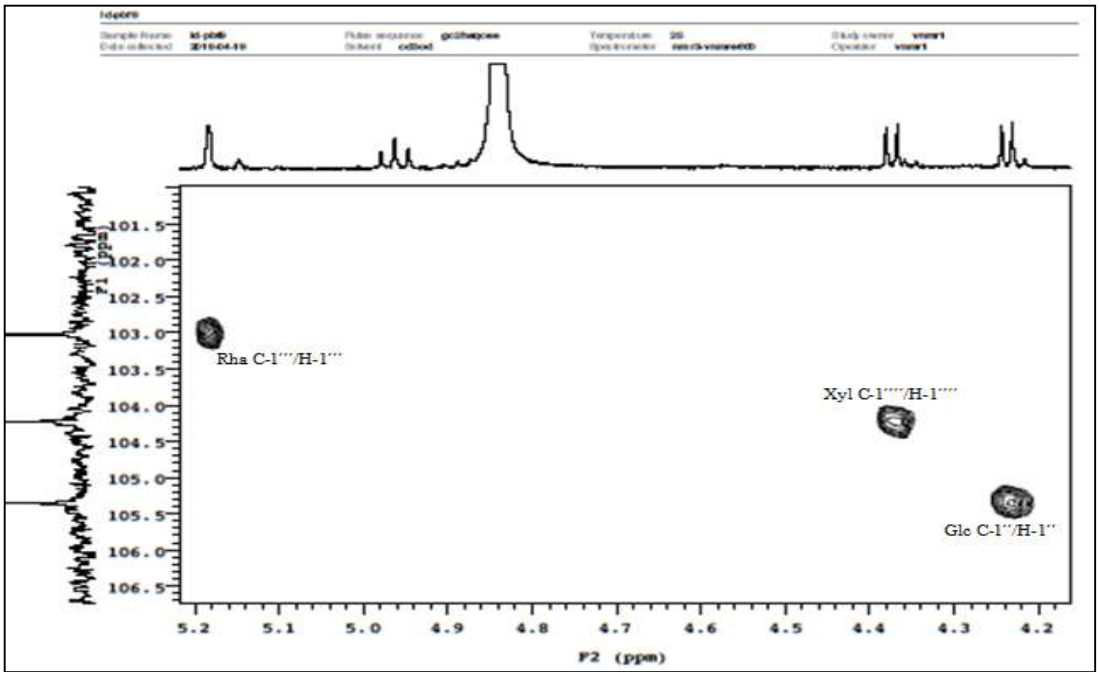


Figure 103 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **10.**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomèrique du glucose H-1″ et H-2″ résonants à 4.24 et 3.18 ppm respectivement, le proton anomérique du rhamnose H-1‴ et H-2‴ résonant à 5.18 et 3.80 ppm respectivement ainsi que le troisième proton anomérique du xylose H-1⁗ et H-2⁗ qui résonnent à 4.38 et 3.38 ppm respectivement.

La liaison interglucidique a été déterminée par l'observation de l'HMBC entre H-1‴ du rhamnose qui apparait à 5.18 ppm et C-3″ du glucose qui résonne à 81.6 ppm et le proton anomérique du xylose H-1⁗ résonant à 4.38 et le C-6′ qui apparait à 69.4 ppm

Le composé **10** est un phényléthanoide glycoside identifié comme l'**Angoroside C** (Figure 104).

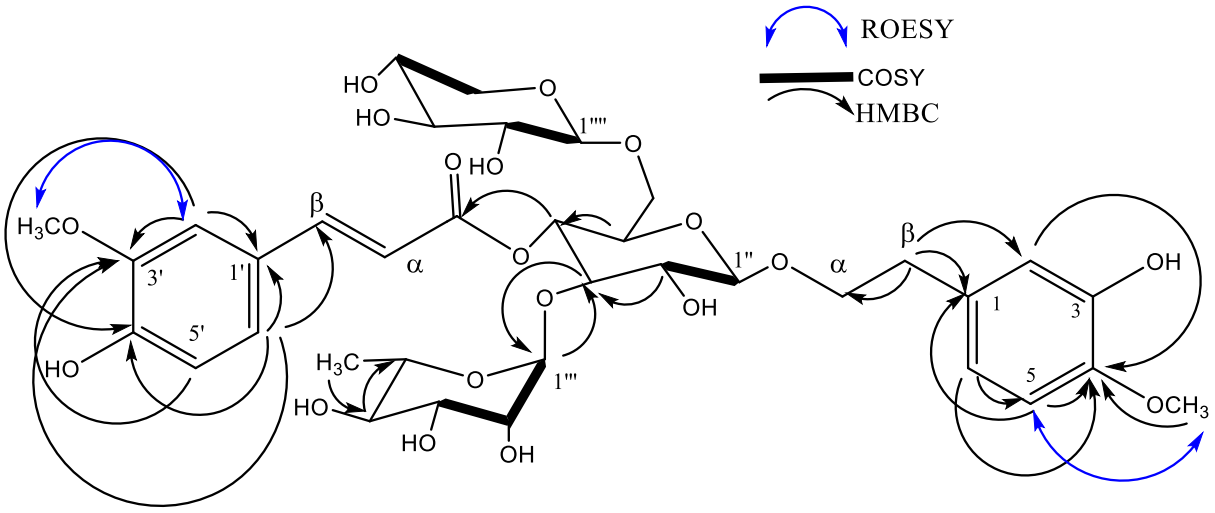


Figure 104: Structure chimique du composé naturel **10**

Tableau 41 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **10** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	132.9
2	6.74 (d, 2.4)	117.1
3	/	nd
4	/	147.5
5	6.82 (d, 8.0)	112.8
6	6.69 (dd, 8.0, 2.0)	121.1
α	3.74 (m)	72.2
	4.04 (m)	
β	2.82 (m)	36.5
4-OCH_3	3.80 (s)	56.8
β- glucose		
1″	4.24 (d, 7.2)	105.3
2″	3.18 (m)	74.8
3″	3.80 (m)	81.4
4″	4.96 (t, 9.6)	70.5
5″	3.28 (m)	77.5
6″	3.58 (m)	69.4
	3.83(m)	
α-rhamnose		
1‴	5.18 (d, 1.6)	103.0
2‴	3.80 (m)	72.3
3‴	3.56 (m)	72.0
4‴	3.28 (m)	73.7
5‴	3.56 (m)	70.4
6‴	1.08 (d, 6.0)	18.4
β- Xylose		
1⁗	4.38 (d, 8.0)	104.2
2⁗	3.38 (dd, 9.2, 8.1)	76.1
3⁗	3.74 (m)	74.8
4⁗	3.44 (m)	71.1
5⁗	3.14 (dd, 11.2, 10.4)	66.9
	3.80 (nd)	
Acide ferulique		
1′	/	127.6
2′	7.19 (d, 1.6)	111.7
3′	/	149.5
4′	/	151.2
5′	6.80 (d, 8.0)	116.5
6′	7.08 (dd, 8.0, 2.0)	124.4
α′	6.36 (d, 16.0)	114.8
β′	7.65 (d, 15.6)	148.1
C=O	/	168.3
3′-OCH_3	3.88 (s)	56.8

3.2.3.2.11 Description du composé 11

3.2.3.2.11.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **11** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 765.6 $[M + Na]^+$ (Figure 105) ce qui indique une masse moléculaire de 742. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{34}H_{46}O_{18}$.

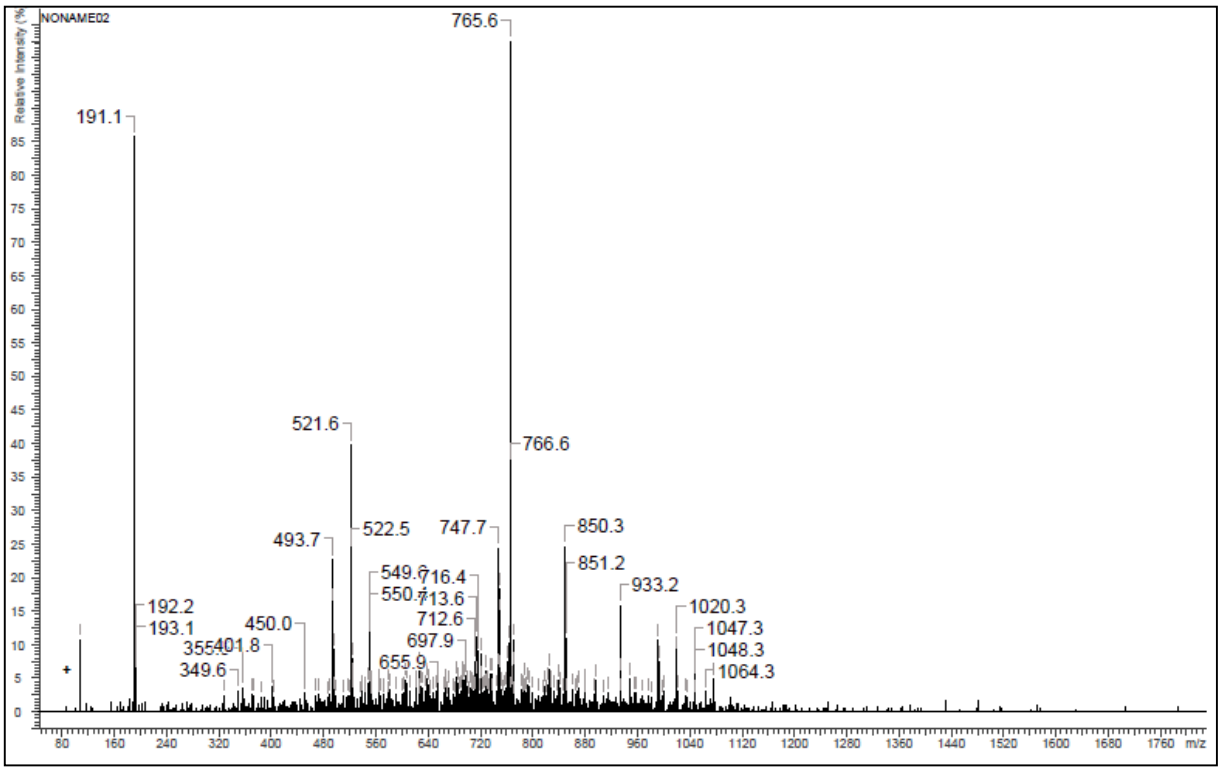


Figure 105: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **11**

3.2.3.2.11.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.11.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN ^{13}C a révélé la présence de 14 carbones. Les protons correspondants à chacun des atomes de carbone ont été déterminés à partir d'une expérience HSQC (Figure 106). Cependant, la formule moléculaire et les spectres RMN ^{1}H et ^{13}C révèlent qu'il s'agit d'une structure parfaitement symétrique (Tableau 42).

Le spectre RMN ^{1}H présente un signal caractéristique à 6.70 ppm qui résonne sous forme de singulet appartenant aux cycles benzéniques H-2, H-6, H-2′, H-6′tétrasubstitués, quatre protons méthoxy à 3,80 ppm qui résonnent sous forme d'un singulet et qui selon l'expérience HMBC sont fixés en C-3, C-5, C-3′, C-5′.

De plus la présence de, 2 oxyméthylènes (73.0 ppm, C-9, C-9´), 2 oxyméthines (87.1 ppm, C-7,C-7´) et 2 méthines (55.6 ppm, C-8,C-8´) indiquent la présence d'un cycle bis-tétrahydrofuranne .

L'expérience HMBC, montre des corrélations entre H-7 (4.76 ppm) et C-2 (104.8 ppm), C-6 (104.8 ppm), C-8 (55.6 ppm) et C-9 (73.0 ppm). Au niveau du cycle benzénique, le spectre HMBC montre également des corrélations entre H-2(6.70 ppm) et C-1(139.4 ppm), C-3(154.4 ppm) et C-4 (135.5 ppm).

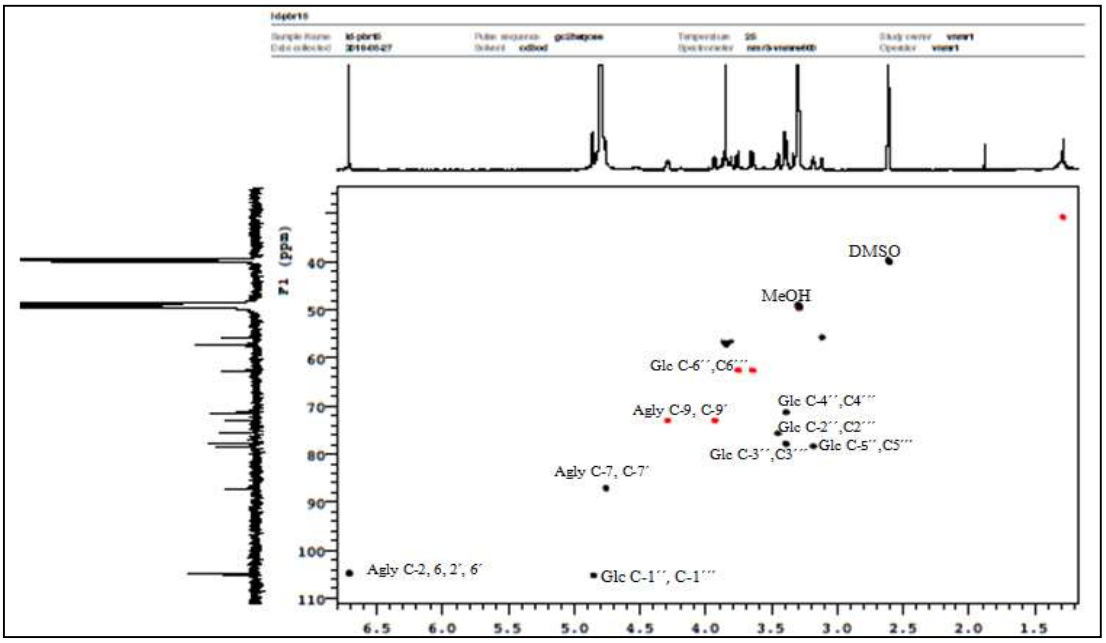


Figure 106 : Spectre HSQC du composé **11.**

3.2.3.2.11.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN^{13}C montre des signaux superposés caractéristiques de deux hexoses symétriques. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence de deux anoméres superposés (Figure 106). Les deux protons anomèriques H-1″et H-1‴ résonants sous forme d'un doublet (*J*=7.6) à 4.86 ppm et les déplacements chimiques ^{13}C du sucre confirme la présence de deux β-D-glucopyranosyles symétriques.

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″et H-2″ et H-1‴ et H-2‴ qui résonnent à 4.86 et 3.46 ppm respectivement.

De plus, la présence d'une corrélation HMBC entre H-1"et H-1‴ qui résonnent à 4.36 ppm chacun et C-4, C-4´ (135.5 ppm) suggère que les deux glucoses symétriques sont fixés en C-4 et C-4´.

Suite à la comparaison des données spectrales, la structure du composé **11** est un lignane diglucoside et a été déterminé comme étant le **syringarésinol-4 -4′-O-β-D-glucopyranoside** nommé **Liriodendrine ou Acanthoside D** (Figure 107).

Tableau 42: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **11** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1,1′	/	139.4
2, 6, 2′, 6′	6.70 (s)	104.8
3, 5, 3′, 5′	/	154.4
4, 4′	/	135.5
7,7′	4.76 (d, 4.0)	87.1
8,8′	3.12 (m)	55.6
3-OCH_3	3.85 (s)	57.0
5-OCH_3	3.85 (s)	57.0
3′-OCH_3	3.85 (s)	57.0
5′-OCH_3	3.85 (s)	57.0
9,9′	3.94 (dd, 8.8, 3.2) 4.29 (dd, 8.8, 6.8)	73.0
β- glucose		
1″,1‴	4.86 (d, 7.6)	105.2
2″,2‴	3.46 (dd, 9.2, 7.6)	75.7
3″,3‴	3.40 (d, 9.2)	77.8
4″,4‴	3.40 (d, 9.2)	71.30
5″,5‴	3.18 (m)	78.3
6″,6‴	3.64 (dd, 12.0, 5.2) 3.76 (dd, 12.0, 2.4)	62.5

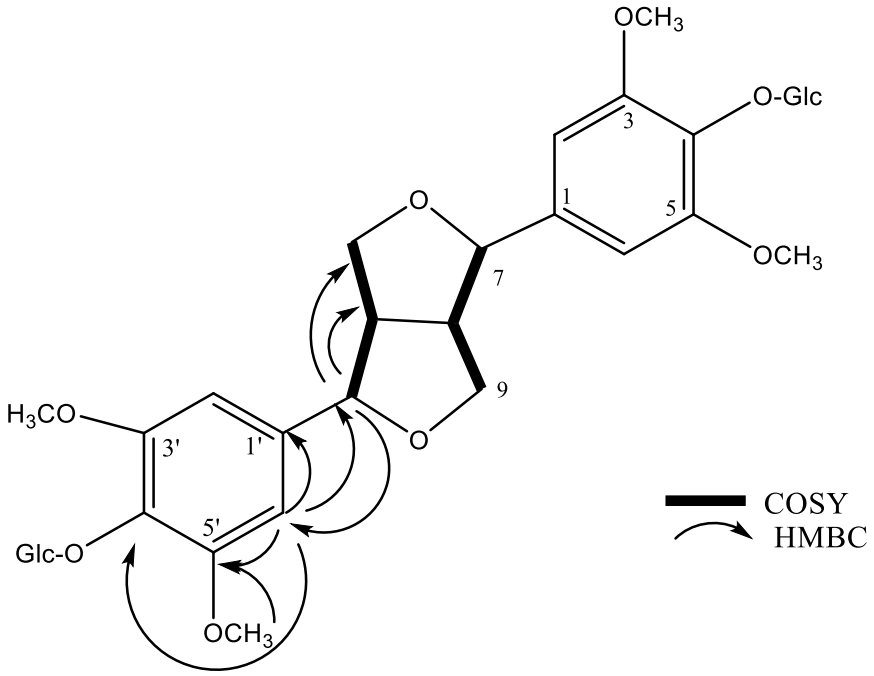


Figure 107: Structure chimique du composé naturel **11**

3.2.3.2.12 Description du composé 12

3.2.3.2.12.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **12** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 545.9 $[M + Na]^+$ (Figure 108) ce qui indique une masse moléculaire de 522. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{26}H_{34}O_{11}$.

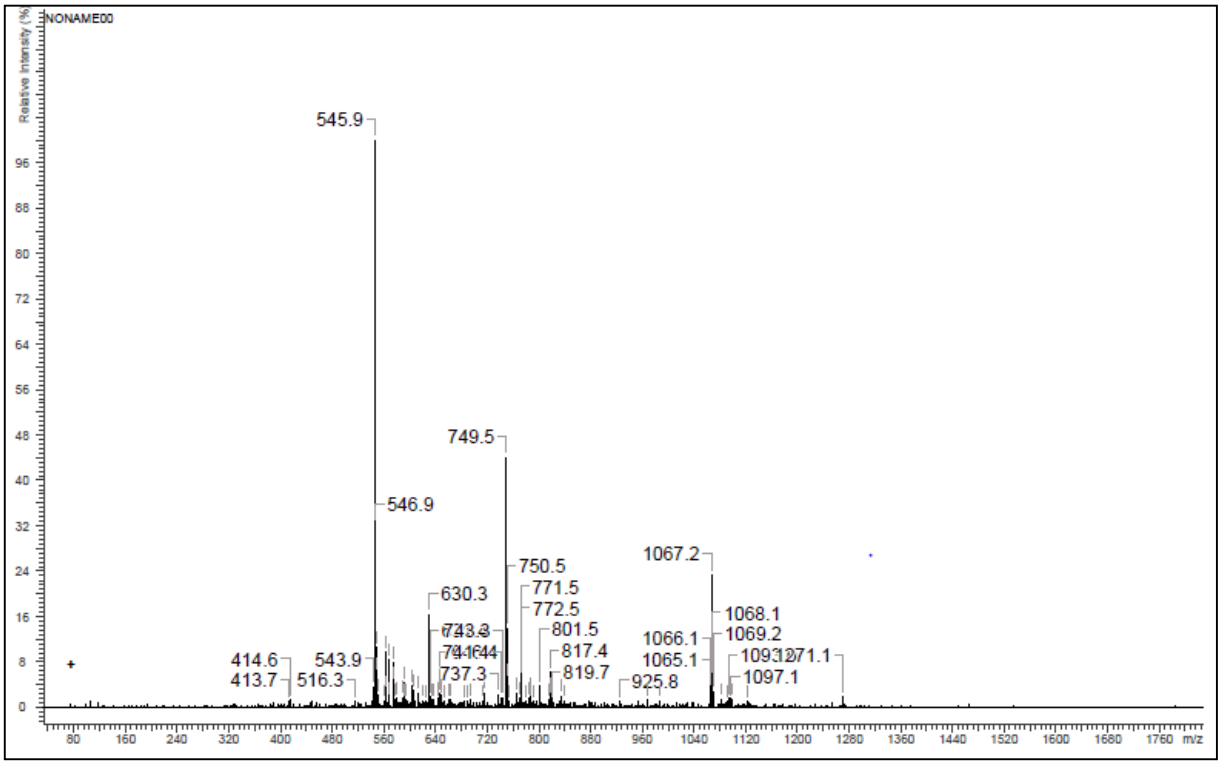


Figure 108: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **12**

3.2.3.2.12.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.12.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN^{13}C du composé **12** en combinaison avec le DEPT nous ont permis de mettre en évidence 26 carbones dont deux méthoxy, cinq carbones secondaires et sept carbones quaternaires. Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, ROESY (Figure 109).

Le spectre RMN ^{1}H (dans le CD_3OD) montre cinq protons aromatiques présents dans deux cycles aromatiques, comme indiqué dans le tableau 43.

L'expérience HMBC, montre des corrélations au niveau du premier cycle benzénique entre H-7 (5.57 ppm) et C-1 (134.6 ppm), C-2 (110.7 ppm), C-6 (119.7 ppm), C-8 (52.9 ppm) et C-9 (72.3 ppm), et une corrélation entre les protons méthoxy (3.82 ppm) et C-3 (149.2 ppm) ce qui suggère que ce méthoxy est fixé en C-3 et que le groupe hydroxyle en C-4 du cycle benzénique. Le deuxième cycle benzénique est fixé en C7′ d'une part et en C-8 d'autre part puisque le spectre HMBC montre une corrélation entre H-7′(2.61 ppm) et C-1′(136.9 ppm) et entre H-8 (3.64 ppm) et C-5′(129.6 ppm).

Le spectre HMBC montre également une corrélation entre H-9′ qui résonne à 3.56 ppm sous forme d'un triplet (*J*=6.4) et C-7′, C-8′ qui résonnent à 32.8 et 35.7 ppm

respectivement. Ainsi, le C7′, C8′ et C9′ vont constituer la chaine latérale de l'alcool conifé rylique.

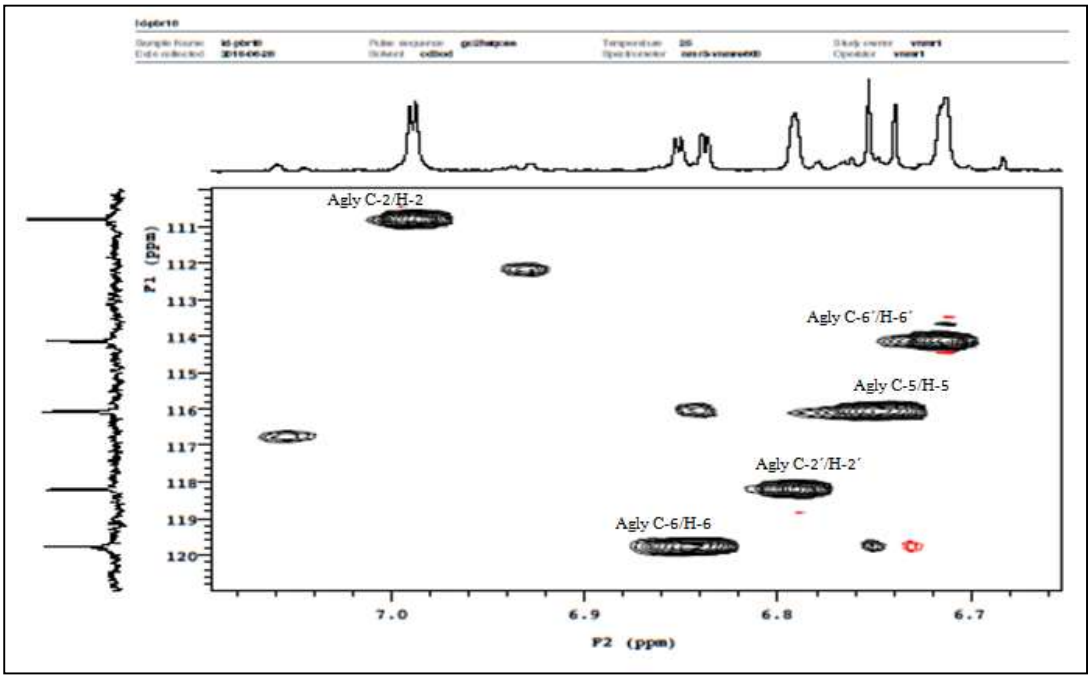


Figure 109 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **12**

3.2.3.2.12.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques d'un seul hexose. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence d'un seul anomère. Le proton anomère H-1″ résonant sous forme d'un doublet (J=7.6) à 4.36 ppm et les déplacements chimiques ^{13}C du sucre confirme la présence d'un β-D-glucopyranosyle (Figure 110).

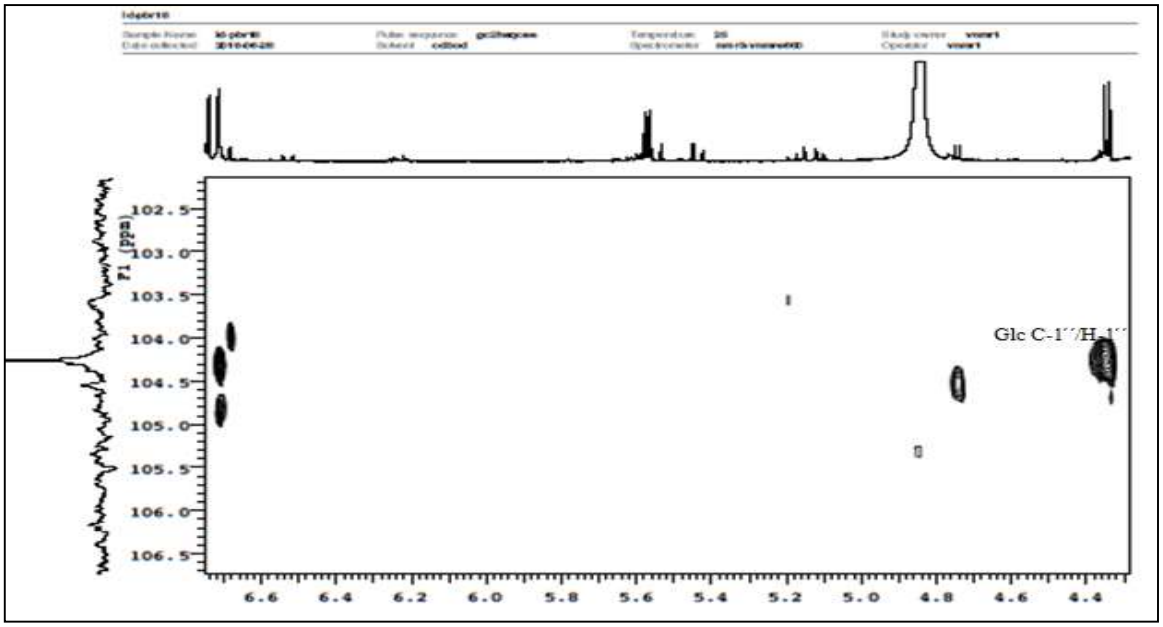


Figure 110: Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **12.**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″ et H-2″ qui résonnent à 4.36 et 3.22 ppm respectivement.

De plus, la présence d'une corrélation HMBC entre H-1" (4.36 ppm) et C-9 (72.3 ppm) suggère que le glucose est fixé au C-9.

Sur la base de ces résultats, le composé **12** est un néolignane glucoside, identifié comme le **7,8-dihydrodehydrodiconiferyl alcool 9-O-β-D-glucopyranoside** (Figure 111).

Tableau 43 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **12** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	134.6
2	6.99 (d, 1.6)	110.7
3	/	149.0
4	/	147.4
5	6.75 (d, 8.4)	116.0
6	6.85 (dd, 8.4, 2.0)	119.7
7	5.57 (d, 6.4)	89.2
8	3.64 (m)	52.9
9	3.84 (m)	72.3
	4.09 (dd, 9.6, 8.0)	
3-OCH_3	3.82 (s)	56.4
1′	/	136.9
2′	6.79(s)	118.2
3′	/	145.1
4′	/	147.5
5′	/	129.6
6′	6.71 (s)	114.1
7′	2.61 (t, 8.0)	32.8
8′	1.80 (m)	35.7
9′	3.56 (t, 6.4)	62.2
3′-OCH_3	3.85 (s)	56.7
β-glucose		
1″	4.36 (d, 7.6)	104.2
2″	3.22 (dd, 9.2, 8.0)	75.1
3″	3.35 (m)	78.2
4″	3.28 (m)	71.6
5″	3.27 (m)	78.0
6″	3.67 (dd, 11.6, 5.6)	62.7
	3.86 (m)	

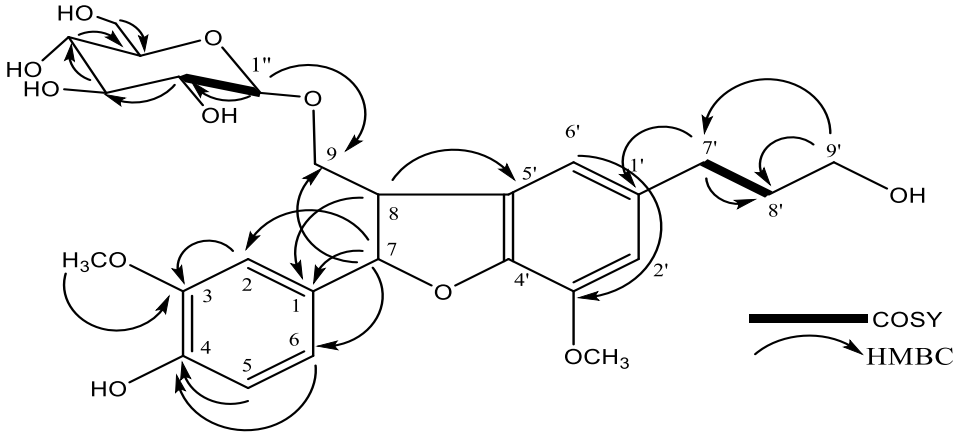


Figure 111: Structure chimique du composé naturel **12**

3.2.3.2.13 Description du composé 13

3.2.3.2.13.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **13** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 605.8 $[M + Na]^+$ (Figure 112). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 581.7 $[M - H]^-$ (Figure 113), ce qui indique une masse moléculaire de 582. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{28}H_{38}O_{13}$.

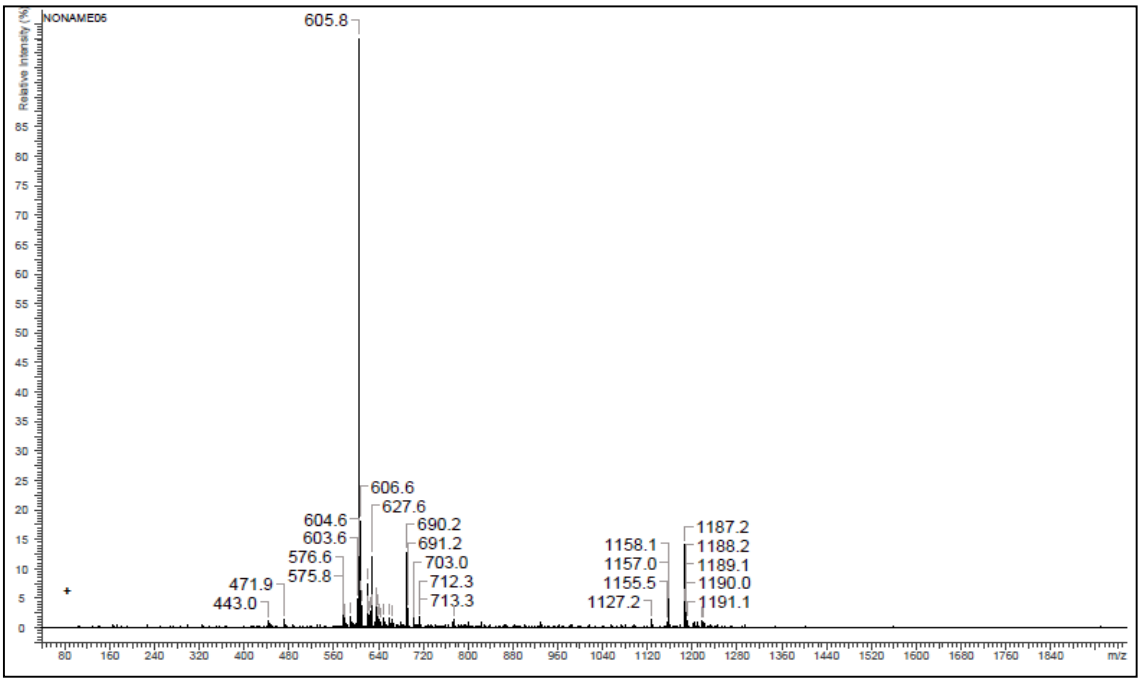


Figure 112: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **13**

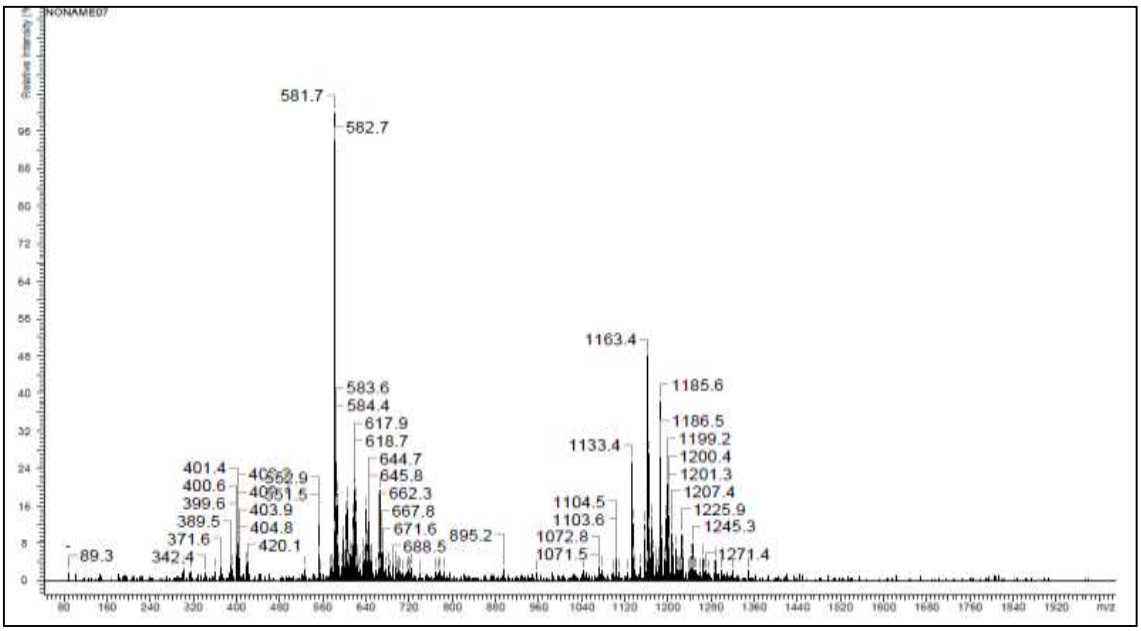


Figure 113: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **13**

3.2.3.2.13.1 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.13.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN ^{1}H (dans le CD_3OD) montre deux paires de protons aromatiques qui résonnent à 6.50 et 6.65 sous forme de singulets, et quatre groupes méthoxy dont deux singulets superposés à 3.82 ppm et deux autres à 3.84 ppm comme indiqué dans le tableau 44.

L'expérience HMBC, montre des corrélations entre H-7´ (4,86 ppm) et C-1´ (134,8 ppm), C -2´ (104.3 ppm), C-6´ (104.3 ppm), C-8´ (51.80 ppm) et C-9´ (68.00 ppm), ainsi que des corrélations entre les protons méthoxy (3.82 ppm) et C-3´ (149.20 ppm), C-5´ (149.20 ppm) ce qui suggère que les deux groupes méthoxy sont fixés en C-3´et C-5´. Nous avons également observé une corrélation HMBC entre H-7´ qui résonne à 84,6 ppm et C-1´ (134.8 ppm), ce cycle benzénique est donc fixé sur C-7´ de l'aglycone.

Le spectre HMBC montre aussi des corrélations entre H-7 (2,50 et 2,95 ppm) et C-1 (132.9 ppm), C-2 (107.0 ppm), C-6 (107.0 ppm), C-8 (43.9 ppm), C-9 (73.6 ppm) et C-8´ (51.80 ppm) et aussi entre les deux groupes méthoxy et C-3 ,C-5 du cycle benzénique qui résonnent chacun à 149.2 ppm, ce qui suggère que les deux groupes méthoxy sont fixés en C-3 et C-5.

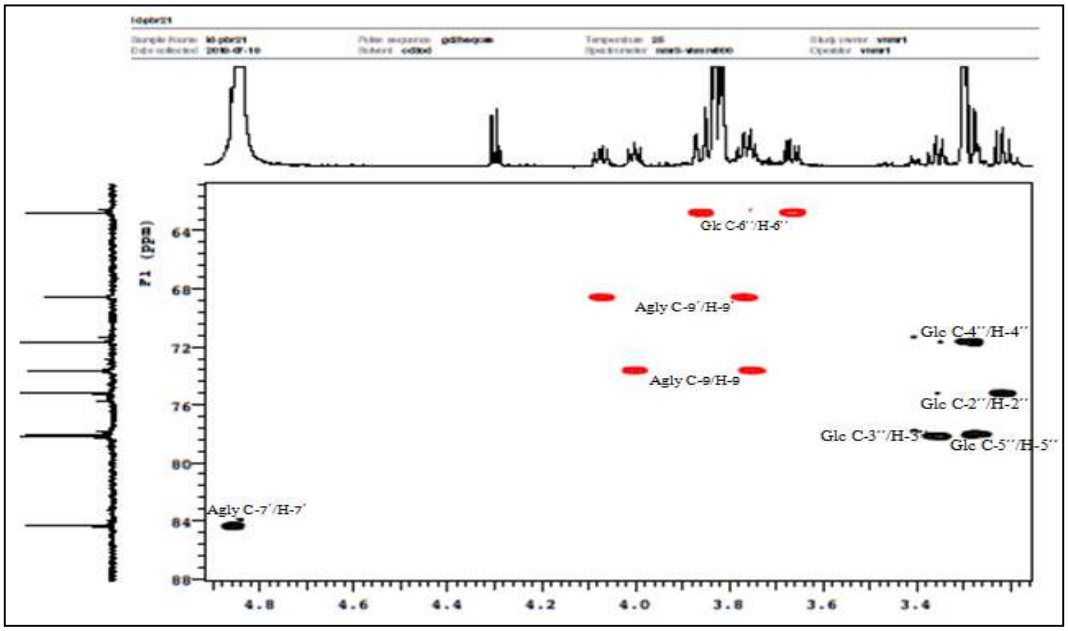


Figure 114 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **13.**

3.2.3.2.13.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques d'un seul hexose. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence d'un seul anomère (Figure 115). Le proton anomère H1″ résonant sous forme d'un doublet (J=7.6) à 4.30 ppm et les déplacements chimiques ^{13}C du sucre (Figure 114) confirme la présence d'un β-D-glucopyranosyle.

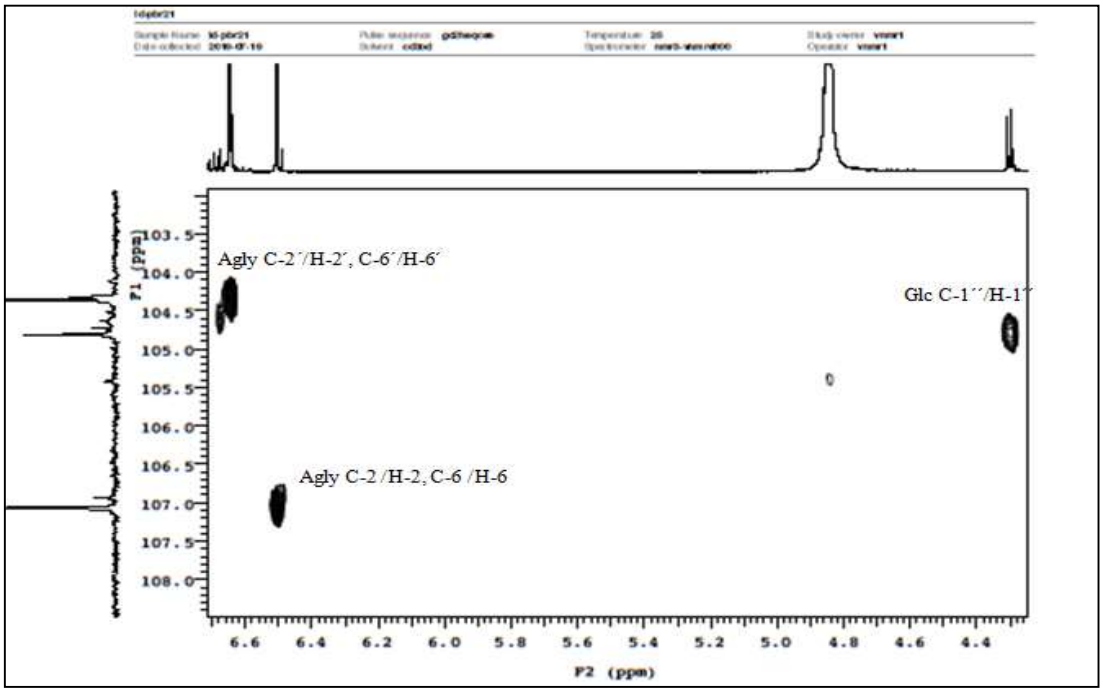


Figure 115 : Spectre HSQC de la zone des anomères du composé **13**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″ et H-2″ résonants à 4.30 et 3.22 ppm. De plus, la corrélation HMBC entre H-9´ (3,76 et 4,07 ppm) et C-1 "(104,8 ppm) suggère que le glucose est fixé au C-9´de l'aglycone.

Sur la base de ces résultats, le composé **13** est un lignane glucoside et a été identifié comme l'**Alangilignoside C** (Figure 116).

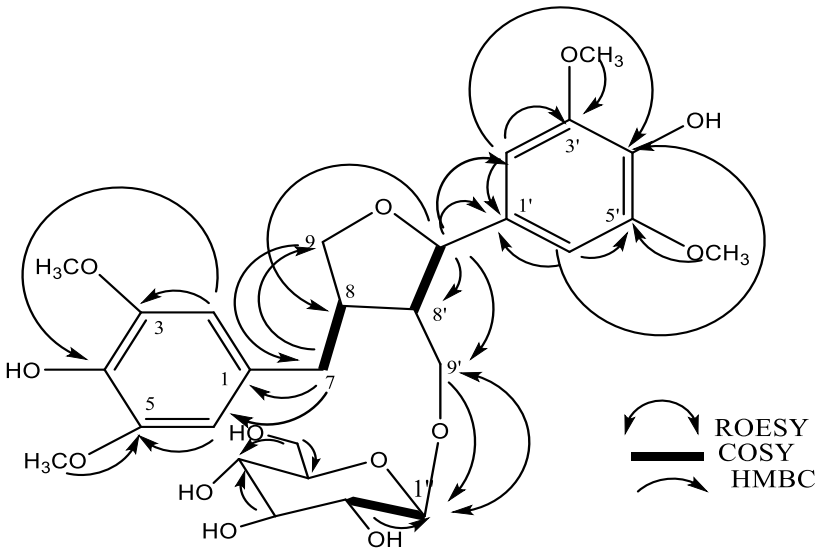


Figure 116: Structure chimique du composé naturel **13**

Tableau 44 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **13** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	132.9
2, 6	6.50 (s)	107.0
3, 5	/	149.3
4	/	134.8
7	2.50 (m)	34.4
	2.95 (dd, 13.6, 4.8)	
8	2.76 (m)	43.9
9	3.75 (m)	73.6
	4.00 (m)	
3-OCH_3	3.84 (s)	56.8
5-OCH_3	3.84 (s)	56.8
1′	/	134.8
2′, 6′	6.65 (s)	104.3
3′, 5′	/	149.2
4′	/	135.8
7′	4.86 (nd)	84.6
8′	2.50 (m)	51.4
9′	3.76 (m)	68.0
	4.07 (dd, 10.0, 6.4)	
3′-OCH_3	3.82 (s)	56.8
5′-OCH_3	3.82 (s)	56.8
β-glucose		
1″	4.30 (d, 7.6)	104.8
2″	3.22 (dd, 9.2, 7.6)	75.2
3″	3.36 (m)	78.1
4″	3.28 (m)	71.6
5″	3.27 (m)	78.0
6″	3.66 (dd, 12.0, 5.2)	62.7
	3.86 (d, 12.0)	

3.2.3.2.14 Description du composé 14

3.2.3.2.14.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **14** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m /z 605.7 $[M + Na]^+$ (Figure 117). Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 581.7 $[M - H]^-$ (Figure 118) ce qui indique une masse moléculaire de 582. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{28}H_{38}O_{13}$.

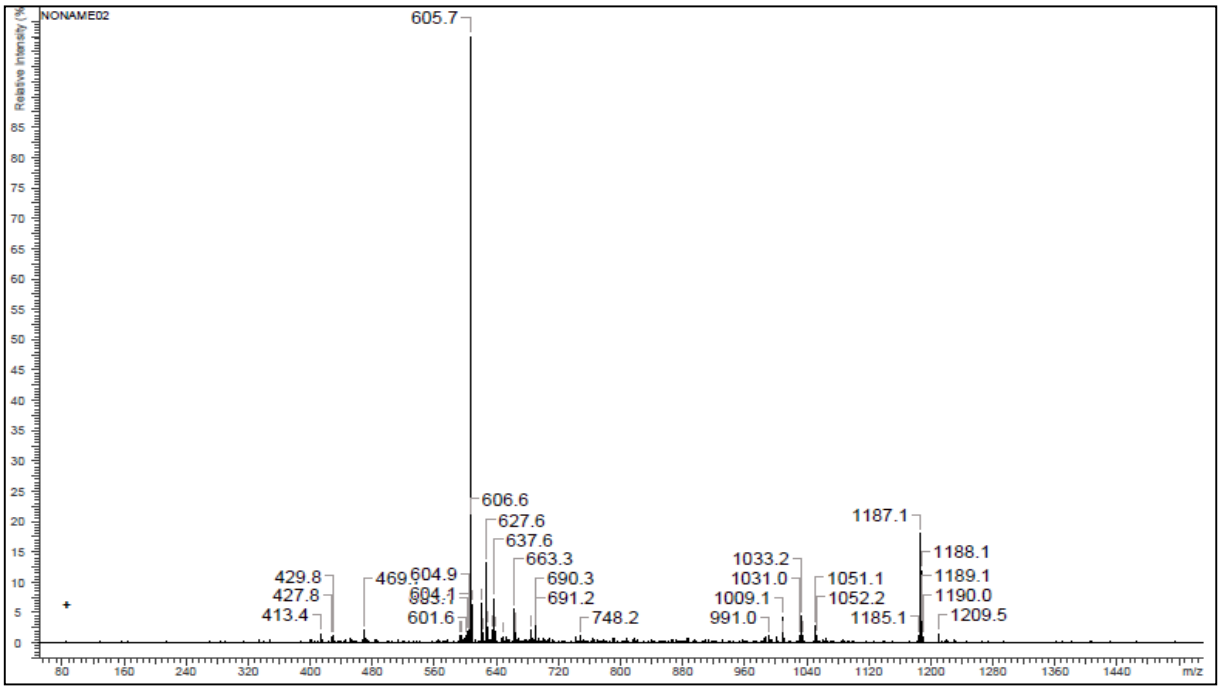


Figure 117: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **14**

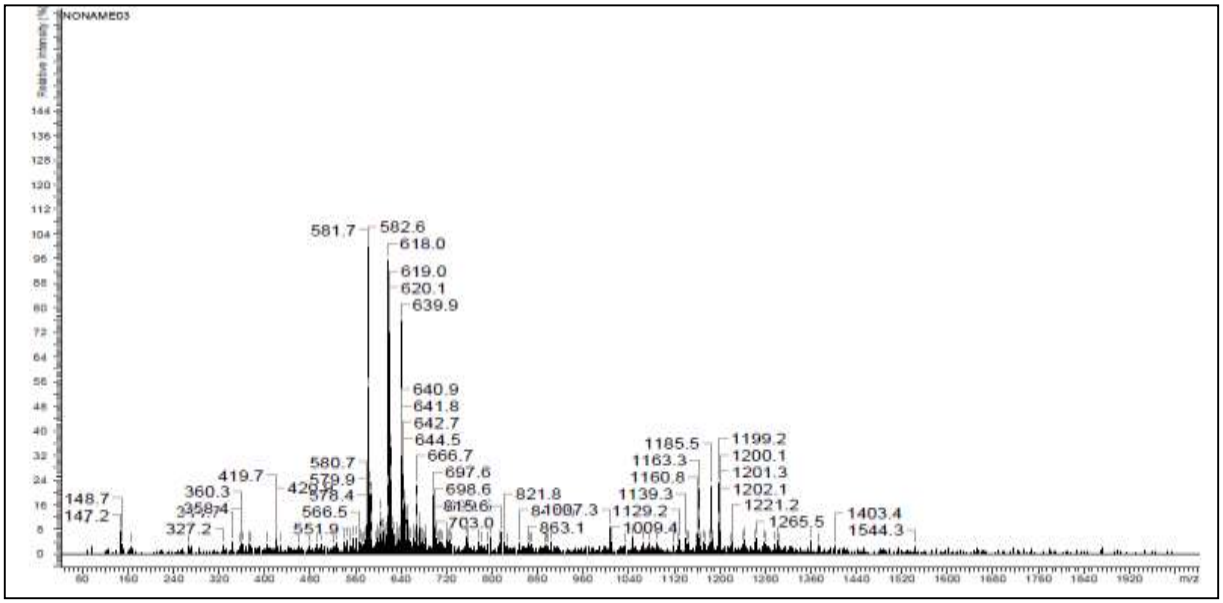


Figure 118: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **14**

3.2.3.2.14.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.14.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN-^{13}C du composé **14** met en évidence 28 carbones dont 4 méthoxy aromatiques, 9 carbones quaternaires. 12 signaux de carbones sont attribués aux deux cycles benzéniques (Tableau 45). Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués l'analyse des spectres HSQC, HMBC, TOCSY, COSY, ROESY (Figure 119).

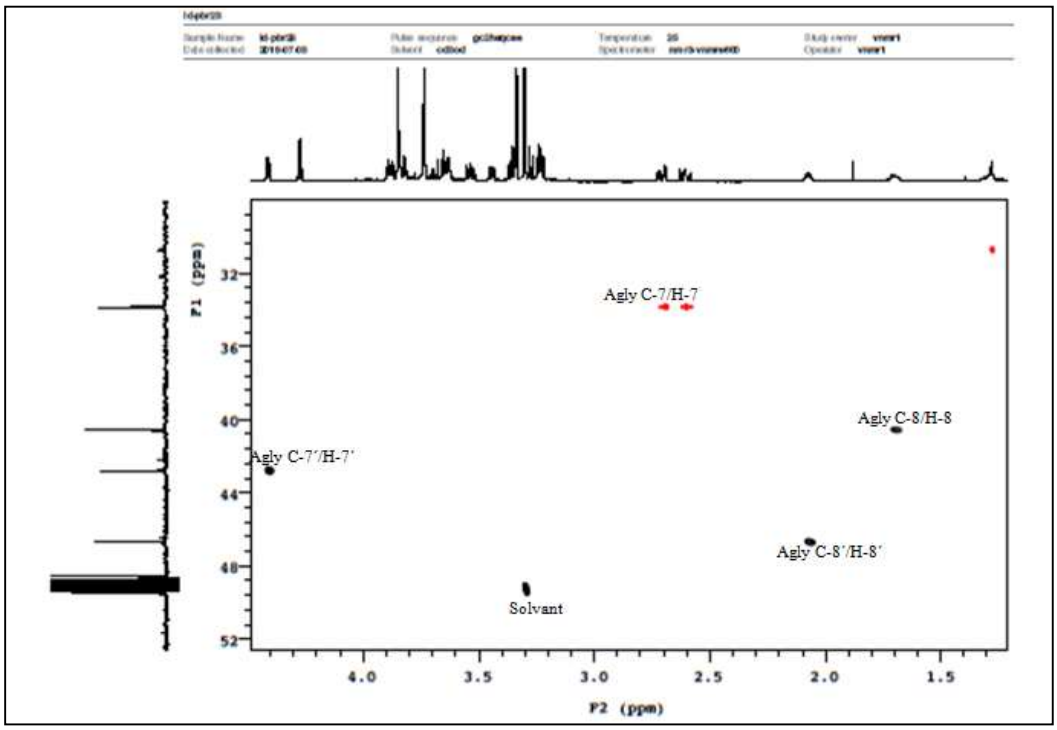


Figure 119 : Spectre HSQC de la partie aglycone du composé **14.**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- H-6 (6.57 ppm) et C-1 (130.1 ppm), C-2 (126.4 ppm), C-3 (147.5 ppm), C-4 (138.9 ppm), C-5 (148.6 ppm) et C-7(33.8 ppm).
- H-2´ (6.42 ppm) et C-1´ (139.3 ppm), C-3´ (148.9 ppm) et C-4´ (134.4 ppm)
- H-9 qui résonne à 3.63 ppm sous forme de doublet de doublet et C-8 (40.5 ppm), C-7 (33.8 ppm) et C-8´(46.6 ppm).
- H-9´ (3.88 ppm) et H-8´ qui résonne sous forme de multiplet à 2.07 ppm.

2.2.3.2.14.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques d'un seul hexose. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence d'un seul anomère (Figure 120). Le

proton anomérique H-1″ résonant sous forme d'un doublet (*J*=8.0) à 4.27 ppm et les déplacements chimiques ^{13}C du sucre confirme la présence d'un β-D-glucopyranosyle.

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1″ et H-2″ résonants à 4.27 et 3.22 ppm.

De plus, la corrélation HMBC entre H-9´ (3.44 et 3.44 ppm) et glu C-1 "(104,8 ppm) suggère que le glucose est fixé au C-9´de l'aglycone.

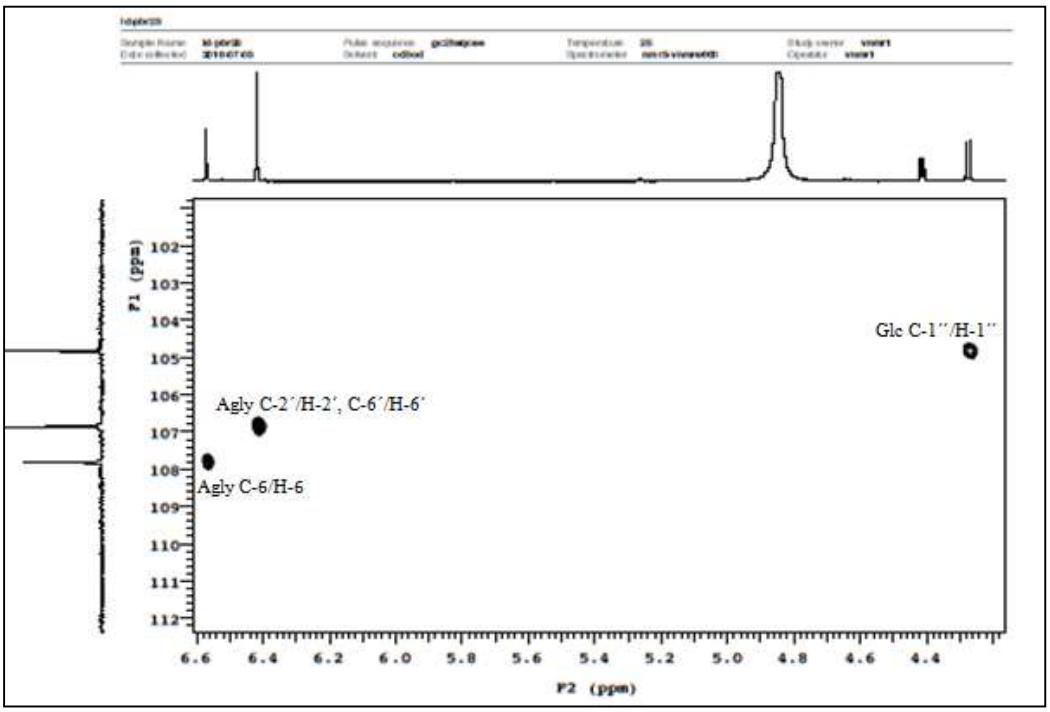


Figure 120 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **14.**

Sur la base de ces résultats, le composé **14** est un lignane glucoside, identifié comme **Lyoniresinol 3α-O-β-D-glucopyranoside** (Figure 121).

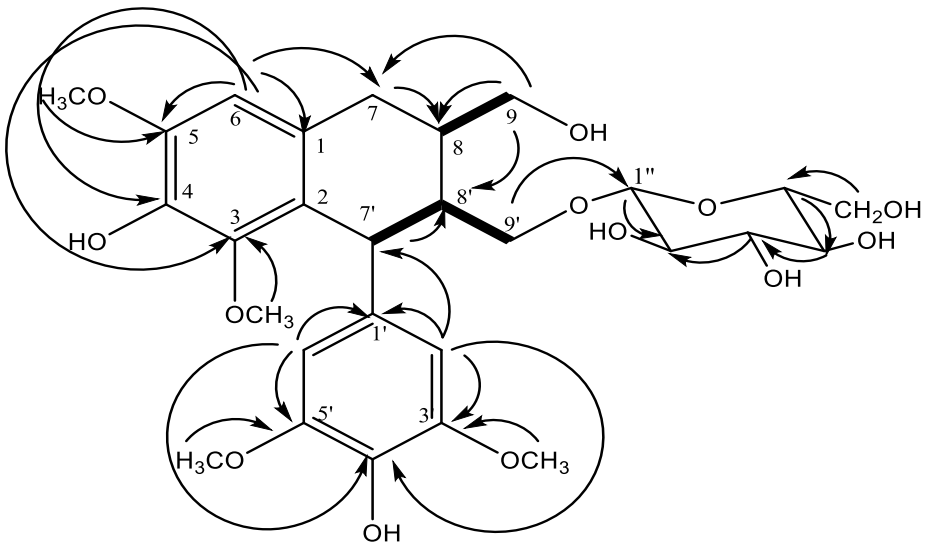


Figure 121: Structure chimique du composé naturel **14**

Tableau 45: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **14** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
Aglycone		
1	/	130.1
2	/	126.4
3	/	147.5
4	/	138.9
5	/	148.6
6	6.57 (s)	107.8
7	2.62 (dd, 14.8, 11.6)	33.8
	2.70 (dd, 14.8, 4.8)	
8	1.70(m)	40.5
9	3.53 (dd, 11.2, 6.8)	66.1
	3.63(m)	
3-OCH_3	3.33 (s)	60.1
5-OCH_3	3.84 (s)	56.5
1′	/	139.3
2′, 6′	6.42(s)	106.8
3′, 5′	/	148.9
4′	/	134.4
7′	4.42 (d, 6.0)	42.7
8′	2.07(m)	46.6
9′	3.44 (dd, 9.6, 4.0)	71.4
	3.88 (dd, 9.6, 5.6)	
3′-OCH_3	3.73 (s)	56.8
5′-OCH_3	3.73 (s)	56.8
β-glucose		
1″	4.27 (d, 8.0)	104.8
2″	3.22 (m)	75.1
3″	3.35 (t, 8.8)	78.2
4″	3.27 (m)	71.6
5″	3.23 (m)	77.9
6″	3.64 (m)	62.8
	3.82 (m)	

3.2.3.2.15 Description du composé 15

3.2.3.2.15.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **15** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m/z 975.6 $[2M + Na]^+$(Figure 122), et un autre pic à m/z 499.9 $[M + Na]^+$. Son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m/z 475.5 $[M - H]^-$ (Figure 123), ce qui indique une masse moléculaire de 476. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{29}H_{48}O_5$.

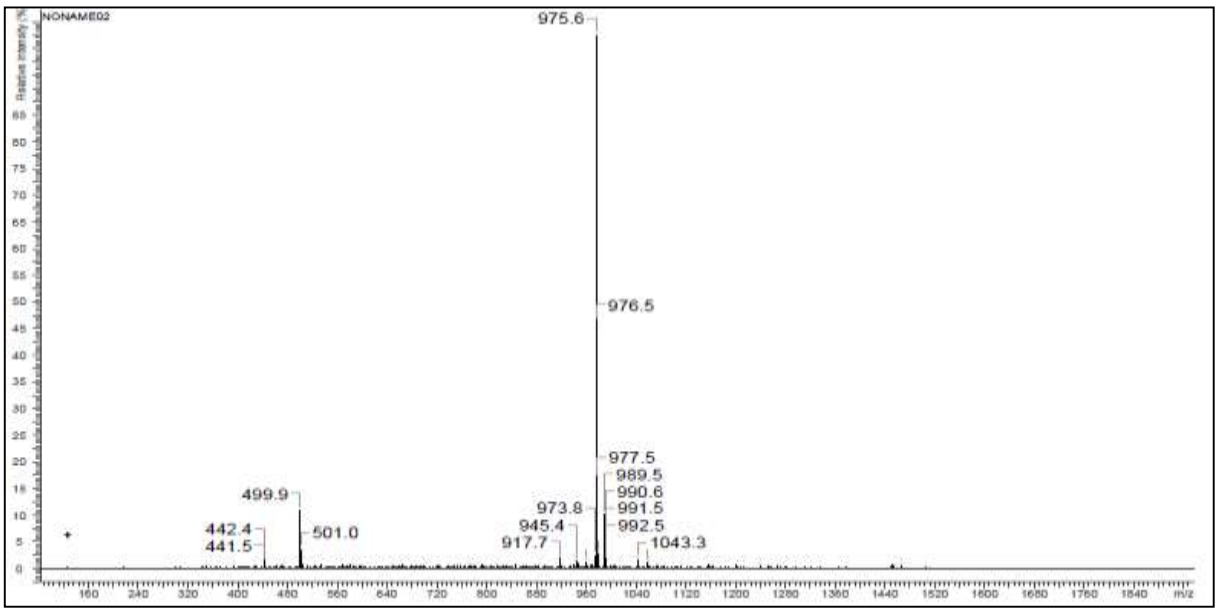


Figure 122: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **15**

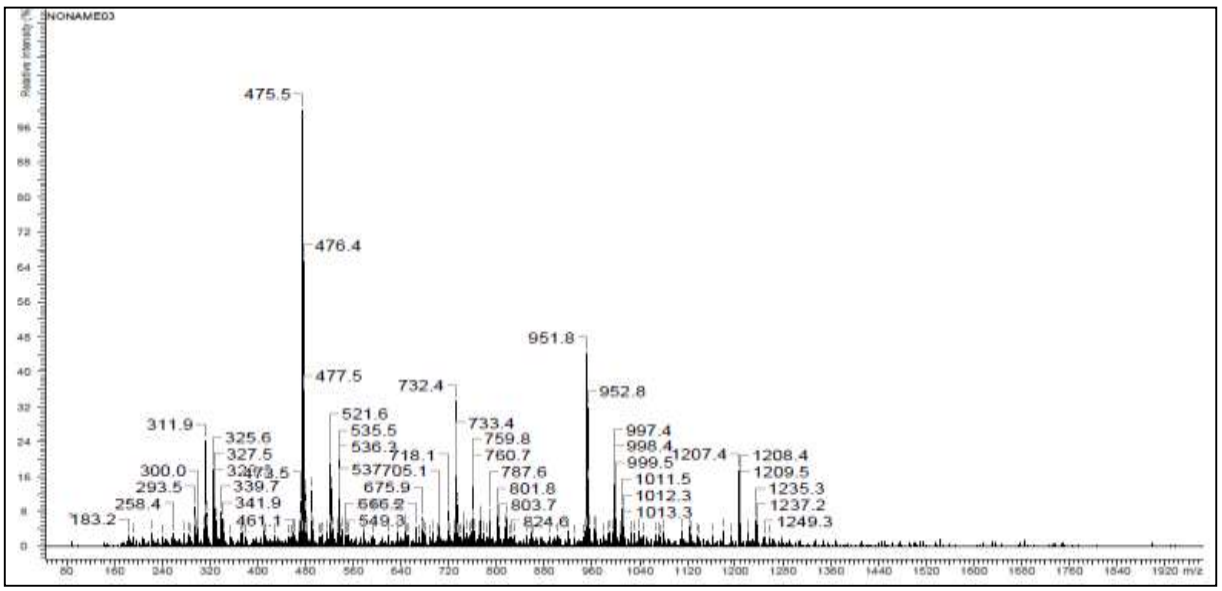


Figure 123: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **15**

3.2.3.2.15.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.15.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN ^{1}H montre cinq singulets des méthyles qui résonnent à 0.94, 1.00, 1.02, 1.03, 1.12 ppm, trois méthines oxygénés qui sont apparus à 3.87, 4.01, 3.89 ppm ; deux groupes d'hydroxyméthyle 3.70 ppm, 3.91 ppm (2d, J = 11,2 Hz chacun) et 3.58 ppm, 3.69 ppm (2d, J = 11,2 Hz chacun) et un proton oléfinique qui résonne à 5.77 ppm. Un total de 29 signaux a été observé dans le spectre RMN^{13}C (Tableau 46). Tous les signaux des carbones et des protons sont déterminés et attribués d'après l'analyse des spectres HSQC, HMBC, COSY, ROESY (Figure 124).

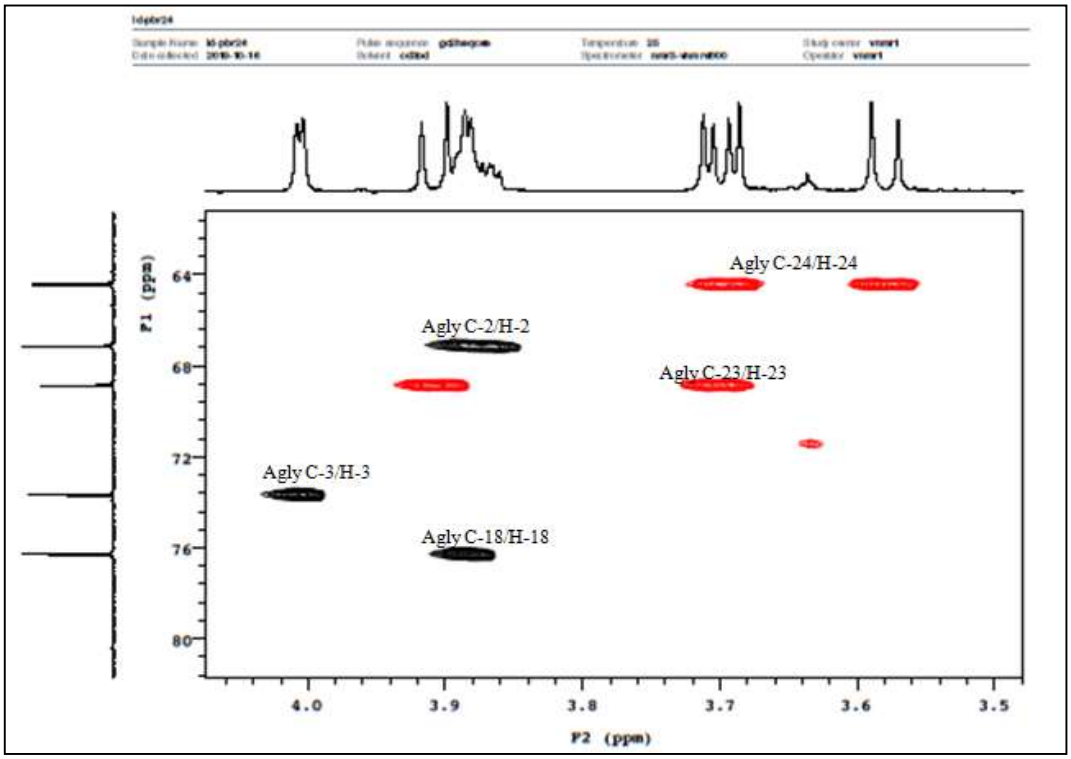


Figure 124 : Spectre HSQC du composé **15.**

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre :

- H-3 qui résonne à 4.01 ppm avec C-2 (67.1 ppm), C-4 quaternaire (47.8 ppm) et C-5 (45.0 ppm).
- H-5 qui résonne à 1.58 ppm avec C-4 (47.8 ppm) et C-7(35.1 ppm).
- H-12 (5.77 ppm) avec C-18 (76.2 ppm) et C-14 (45.1 ppm) ce qui indique que la double liaison trisubstituée est située en position 12.
- H-25 (0.94 ppm) avec le carbone quaternaire C-10 (40.6 ppm) et C-9 (48.6 ppm)
- H-27 avec le carbone C-13 quaternaire oléfinique qui résonne à 143.4 ppm.

- H-19 (1.12 ppm) avec C-18 (76.2 ppm), C-20 (39.7), C-21 (36.9 ppm), C-22(42.9 ppm), C-28 (30.3 ppm)
- H-19 (1.96 ppm) avec C-17 (51.0 ppm), C-18 (76.2 ppm), C-20 (39.7), C-21 (36.9 ppm), C-28 (30.3 ppm). Le carbone quaternaire C-17 est considéré ainsi comme un carbone spiro, il permet de relier la structure tétracyclique au reste de la génine
- H-23(3.91 ppm) avec C-4 (47.8 ppm) et C-5(45.0 ppm)
- H-23 (3.70 ppm) avec C-24 (64.4 ppm)

En se basant sur ces résultats, les cinq groupes OH sont fixés sur C-2, C-3, C-18, C-23 et C-24. Le composé **15** est un nortriterpène identifié comme le **Phlomispentaol** (Figure 125).

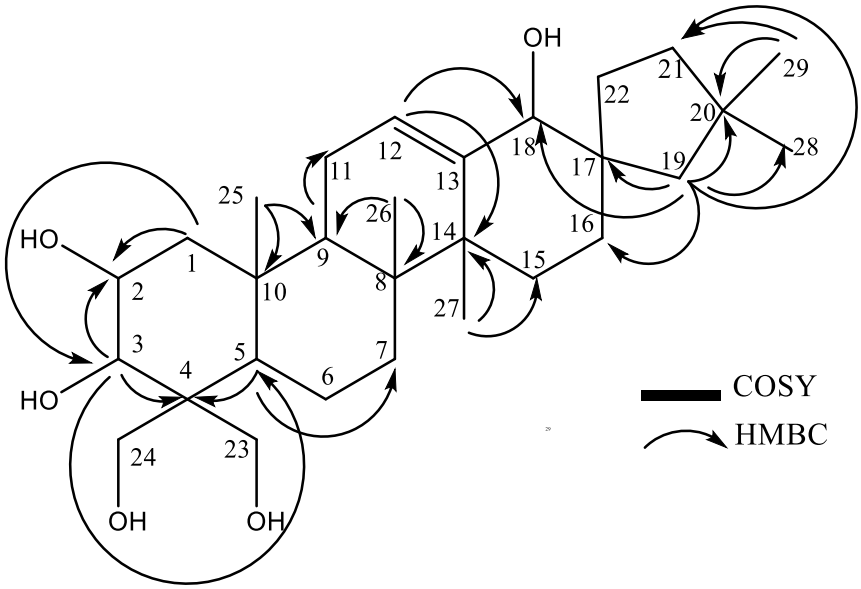


Figure 125: Structure chimique du composé naturel **15**

Tableau 46 : Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **15** ($CDCl_3$, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	**δ_C ppm**
1	1.32 (m)	42.8
	1.67 (m)	
2	3.87 (m)	67.1
3	4.01 (d, 2.4)	73.6
4	/	47.8
5	1.58 (m)	45.0
6	1.42 (m)	19.4
	1.48 (m)	
7	1.41 (m)	35.1
	1.58 (m)	
8	/	38.8
9	1.65 (m)	48.6
10	/	40.6
11	2.00 (m)	24.1
12	5.77 (m)	119.0
13	/	143.0
14	/	45.1
15	1.32 (m)	29.5
	1.58 (m)	
16	1.03 (m)	28.0
	1.75 (m)	
17	/	51.0
18	3.89 (s)	76.2
19	1.12 (overlap)	53.0
	1.96 (d, 13.2)	
20	/	39.7
21	1.61 (m)	36.9
22	1.36 (m)	42.9
	1.48 (m)	
23	3.70 (d, 11.2)	68.8
	3.91 (d, 11.2)	
24	3.58 (d, 11.6)	64.4
	3.69(d, 11.2)	
25	0.94 (s)	17.9
26	1.03 (s)	17.5
27	1.12 (s)	23.5
28	1.00 (s)	30.3
29	1.02 (s)	30.4

3.2.3.2.16 Description du composé 16

3.2.3.2.16.1 Spectrométrie de masse

Le spectre de masse du composé **16** obtenu par ionisation par eletronébulisateur de haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m/z 355.7 $[M + Na]^+$, et un autre pic à m/z 687.1 $[2M + Na]^+$(Figure 126), et son ESI-MS en mode négatif montre un pic d'ion pseudo- moléculaire à m/z 663.5 $[2M - H]^-$ (Figure 127), ce qui indique une masse moléculaire de 332. Ces valeurs sont en accords avec la formule brute $C_{14}H_{20}O_9$

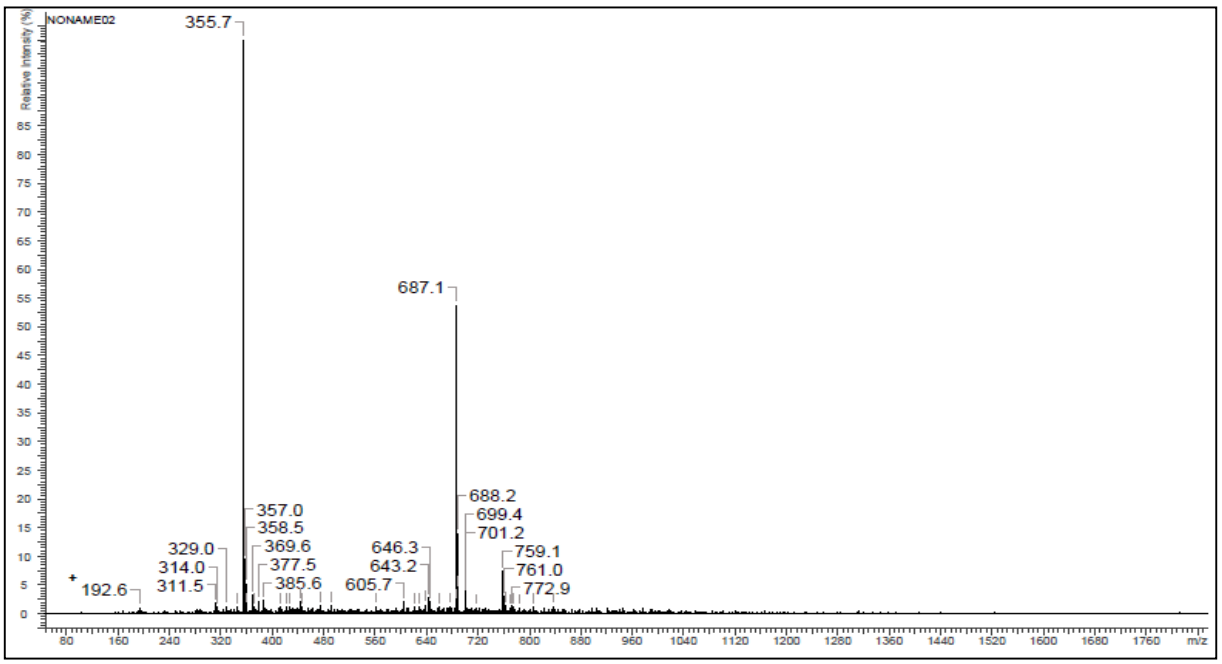


Figure 126: Spectre de masse (HR-ESI-MS) en mode positif du composé **16**

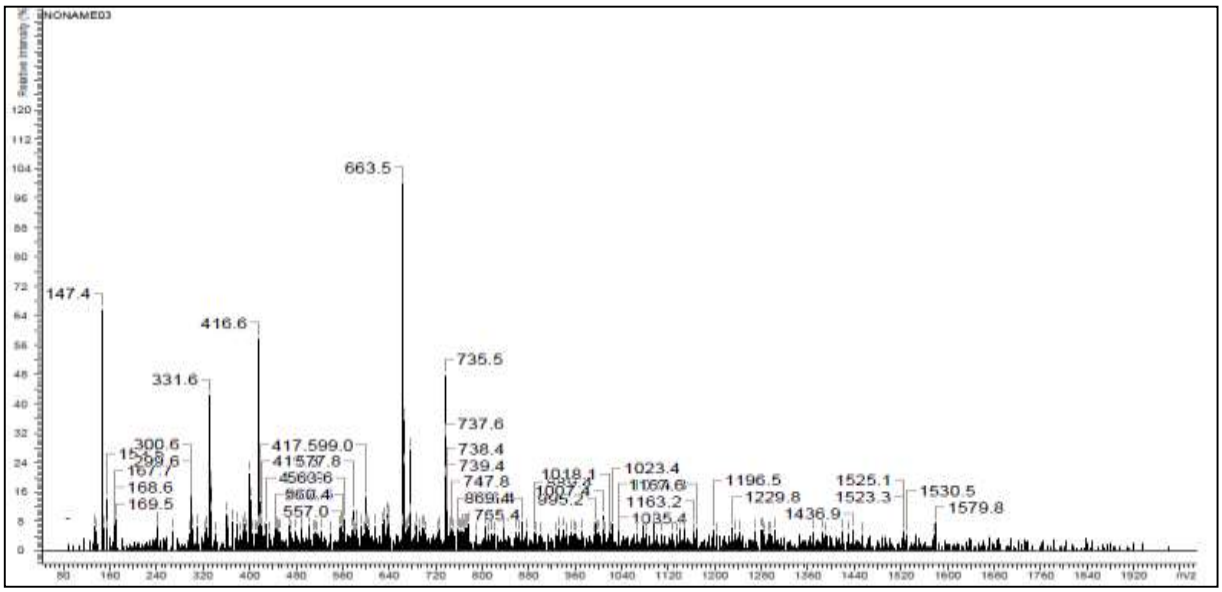


Figure 127: Spectre de masse (ESI-MS) en mode négatif du composé **16**

3.2.3.2.16.2 Spectroscopie RMN

3.2.3.2.16.2.1 Détermination de la génine

Le spectre RMN ^{13}C montre les signaux d'un cycle aromatique substitué d'une manière symétrique avec deux groupes méthoxy qui résonnent à 56.7 ppm (Tableau 47).

L'expérience de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC permet d'observer les couplages entre H-3 qui résonne à 6.12 ppm avec deux carbones quaternaires C-2 (154.7 ppm) et C-4 (156.1 ppm).

Selon l'expérience HMBC, les deux méthoxy qui résonnent à 3.78 ppm sont fixés en C-2 et C-6 qui apparaissent ensemble à 154.7 ppm.

2.2.3.2.16.2.2 Détermination du sucre

Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux caractéristiques d'un seul hexose. L'expérience HSQC et RMN ^{1}H indiquent la présence d'un seul anomère. Le proton anomère H-1´ résonant sous forme d'un doublet (J=7.6) à 4.66 ppm et les déplacements chimiques ^{13}C du sucre confirme la présence d'un β-D-glucopyranosyle (Figures 128, 129).

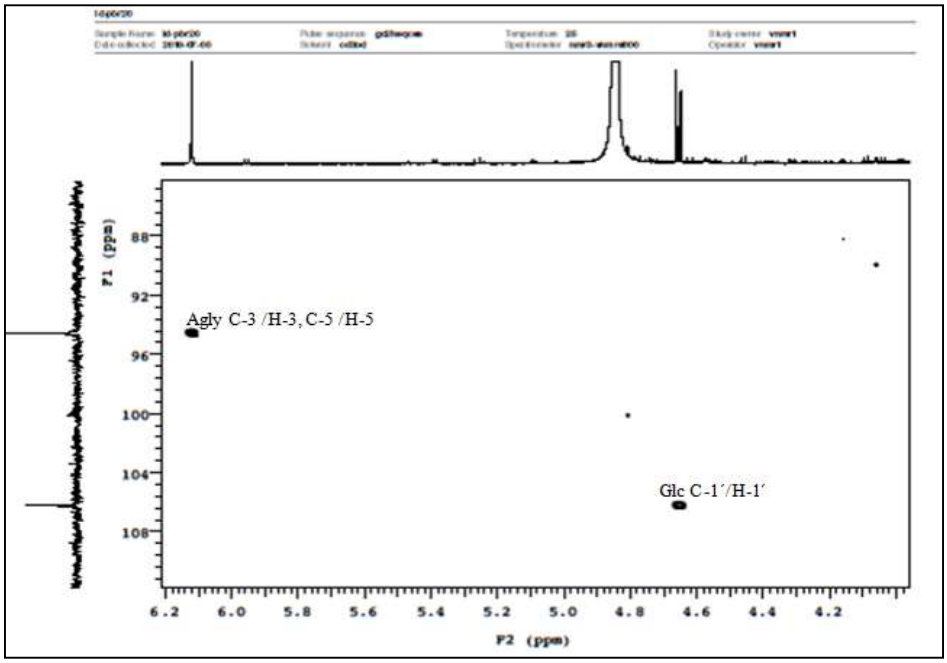


Figure 128 : Spectre HSQC de la zone des anoméres du composé **16.**

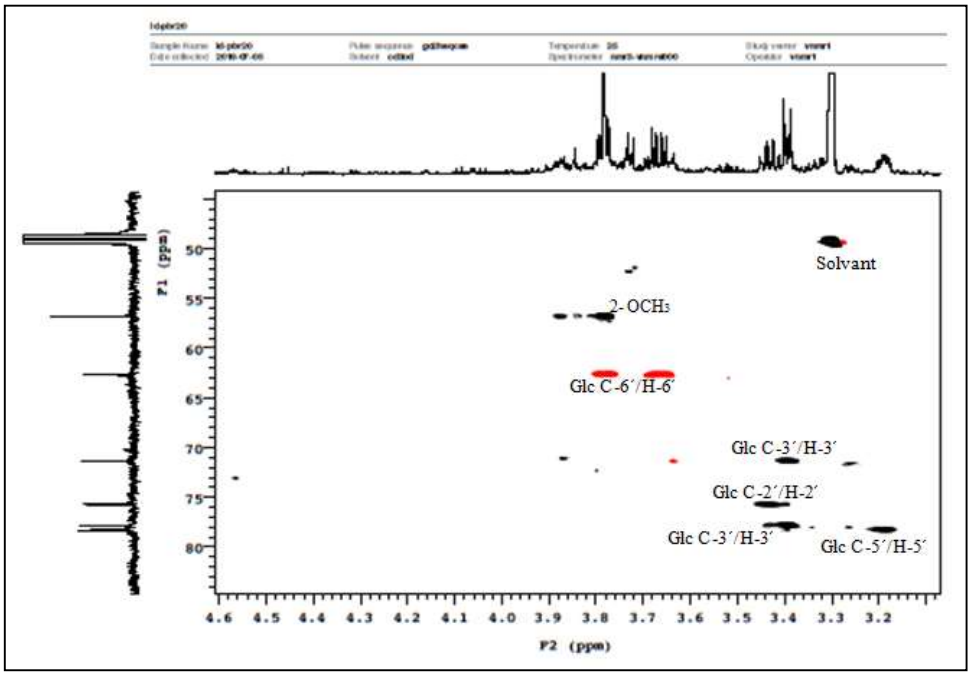


Figure 129 : Spectre HSQC de la partie osidique du composé **16.**

L'expérience COSY nous a permis de relier le proton anomère du glucose H-1′ et H-2′ résonants à 4.66 et 3.43 ppm.

De plus, la corrélation HMBC entre H-1′ (4.66 ppm) et le carbone quaternaire C-1 (129.5 ppm) suggère que le glucose est fixé au C-1 de l'aglycone.

En la lumière de ces résultats, le composé **16** est un phényle glucoside identifié comme le 4 hydroxy -2,6- dimethoxyphenol-1-*O*-β-D- glucoside ou **leonuriside A** (Figure 130).

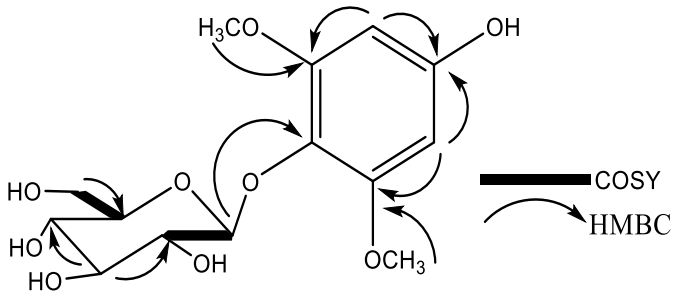


Figure 130: structure chimique du composé naturel **16**

Tableau 47: Valeurs des données de spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du composé **16** (CD_3OD, ^{13}C: 150 MHz, ^{1}H: 600 MHz)

	δ_H (ppm), *J*(Hz)	δ_C ppm
Aglycone		
1	/	129.5
2	/	154.7
3	6.12 (s)	94.5
4	/	156.1
5	6.12 (s)	94.5
6	/	154.7
2-OCH_3	3.78 (s)	56.7
6-OCH_3	3.78 (s)	56.7
β-glucose		
1´	4.66 (d, 7.6)	106.2
2´	3.43 (m)	75.7
3´	3.39 (m)	77.8
4´	3.39 (m)	71.3
5´	3.19(m)	78.2
6´	3.66 (dd, 12.0, 4.8)	62.8
	3.78 (dd, 12.0, 2.4)	

Chaque composé a fait l'objet d'une recherche bibliographique dans le but de savoir s'il est impliqué dans l'activité cicatrisante de la plante.

Des études ont montré que la plupart des composés bioactifs dérivés de plantes qui possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires ont un fort potentiel d'être cicatrisants, puisque ces principaux mécanismes contribuent au phénomène de cicatrisation **(Chingwaru et al., 2019)**

Composé **1 :** Jusqu'à ce jour, aucune étude en rapport avec l'activité cicatrisante de lamalbide n'a été retrouvée dans la littérature.

Lors d'une étude réalisée en 2009 sur l'activité *in vitro* de lamalbide et d'autres iridoides sur le virus de l'hépatite C, il a été rapporté que les glucosides iridoïdes agissent comme des agents précurseurs, ils sont inactifs sous leurs formes natives, mais une fois dans le tractus gastro-intestinal ou dans d'autres milieux appropriés, la partie sucre est éliminée et la partie aglycone du composé serait active et agit pour empêcher la réplication virale **(Zhang et al., 2009**).

Lamalbide isolé de *Mussaenda phillipica* (Rubiaceae) était également testé *in vitro* sur trois lignées cancéreuses, le composé était inactif **(Vidyalakshmi et Rajamanickam, 2009).**

Composé **2 :** Lors de notre recherche bibliographique , le composé **2** a démontré une activité antimicrobienne modérée contre *Enterococcus faecalis* **(Ndjateu et al., 2014)**. Dans

une étude réalisée en 2012 qui a porté sur l'activité anti-inflammatoire de plusieurs iridoïdes isolés des parties aériennes et des racines de *Lamiophlomis* , le shanzhiside méthyle ester et le sésamoside (Composé **3**), n'ont démontré aucun effet anti-inflammatoire **(Viljoen et al., 2012).**

Composé **4 :** Il a été rapporté que le phlomuroside isolé des feuilles d'*Hemerocallis fulva* , Xanthorrhoeaceae a montré une forte activité antioxydante à travers une inhibition de la peroxydation lipidique **(Zhang et al., 2004)**

Composé **5 :** Dans une étude qui porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire du vajicoside, le composé était inactif. L'activité a été estimée à travers l'inhibition de la production de NO dans les MAC de souris (cellules RAW 264.7) stimulées par les LPS.

Composé **6 :** Lors d'une étude réalisée sur les fleurs de *Verbascum mucrotanum* Lamm, le verbascoside isolé eut une importante activité cicatrisante par voie topique, ainsi qu'un fort potentiel anti-inflammatoire pris per os sans induire de toxicité aiguë apparente ni de dommages gastriques **(Akdemir et al., 2011).** L'activité cicatrisante du verbascoside a également été documentée dans d'autres études ultérieurs **(Korkina, 2007).** Le verbascoside est capable d'augmenter la migration des kératinocytes et d'inhiber les médiateurs de l'inflammation **(Georgiev et al., 2012, de Moura Sperotto et al., 2018)**

Composé **7** : Dans une étude réalisée en 2012, il a été démontré que le leucosceptoside B isolé des parties aériennes de *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb constitue un agent anti-inflammatoire potentiel en raison de sa capacité à inhiber la libération de NO et l'expression des cyclooxygénases (COX-1) par les macrophages **(Dimitrova et al., 2012)**

Composé **8 :** Il a été rapporté que le forsythoside B inhibe la production de médiateurs pro-inflammatoires **(Georgiev et al., 2012)** *in vitro* et *in vivo.* Il a également été rapporté qu'il possède une activité de piégeage des radicaux libres produits par les polynucléaires humains stimulés par le formyl- méthionyl- leucyl- phénylalanine (FMLP) mesurée par chimioluminescence **(Heilmann et al., 2001)** et une activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus* **(Hikino et al., 1981, Nazemiyeh et al., 2008).**

Composé **9 :** Une étude a montré que le composé présente une faible activité antioxydante par rapport au monoacétyle martynoside et au verbascoside **(Min et al., 2012).**

Composé **10 :** Il est connu pour son effet anti- inflammatoire **(Díaz-Lanza et al., 2004, Liu et al., 2015, Zhang et al., 2017a)**, et antioxydant **(Li et al., 2001, Ahmad et al., 2009)**

Composé **11 :** Dans une étude réalisée en 2019 sur le Liriodendrine isolé de *Dictamnus dasycarpus* Turcz (Rutaceae), il a été rapporté que le composé présente un effet inhibiteur remarquable sur la production de NO dans les MAC de souris (cellules RAW 264.7) stimulées par les LPS **(Yang et al., 2019).**

Composé **12 :** Il a été rapporté que le composé **12** exerce une activité antifongique en endommageant la membrane de *Candida albicans* par la formation de pores **(Choi et al., 2012).**

Composés **13 et 14 :** Lors d'une étude réalisée en 2014 sur les feuilles de *Lumnitzera racemosa* Willd (Combretaceae) , il a été démontré que le composé **13** et le composé **14** isolés possèdent une puissante activité antioxydante puisqu'ils portent dans leurs structures des groupes hydroxyles phénolique **(Thao et al., 2014)**

Composé **14 :** Il a été rapporté que le composé **14** isolé des racines de *Lycium chinensis* (Solanaceae) possède une puissante activité antimicrobienne contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) isolé de patients sans avoir d'effet hémolytique sur les érythrocytes humains. De plus, il s'est révélé avoir une activité antifongique remarquable contre *Candida albicans* **(Lee et al., 2005)** et une puissante activité antioxydante par rapport à l' α-tocophérol **(Kuo et al., 2013).**

Composés **15** et **16 :** aucune étude en rapport avec l'activité cicatrisante n'a été retrouvée dans la littérature.

3.2.4 Chimiotaxonomie

Les Lamiacées anciennement appelées Labiatae sont divisées en 12 sous-familles, 16 tribus, 9 sous-tribus, 236 genres et plus de 7 000 espèces. C'est la sixième plus grande famille d'angiospermes et la plus grande famille de l'ordre des Lamiales. Cette famille est très intéressante et extrêmement complexe dans tous ses aspects. Ses espèces contiennent divers métabolites secondaires et est connue dans le monde entier pour ses utilisations en ethnopharmacologie **(Frezza et al., 2019a).**

La phytochimie des Lamiacées est très complexe car plusieurs groupes et sous-groupes y coexistent. Elle peut être divisée en deux groupes principaux qui produisent tous deux des métabolites secondaires : le premier comprend toutes les espèces connues pour produire principalement des terpénoïdes volatils, présents dans l'huile essentielle, tandis que le second comprend toutes les espèces connues pour produire principalement des métabolites non volatils et pauvres en huiles essentielles **(Frezza et al., 2019a).** Les espèces de Phlomis sont classées dans le deuxième groupe, par exemple le rendement de l'huile essentielle obtenu

par hydrodistillation de parties aériennes de *P.bovei* était de 0,22% **(Liolios et al., 2007)** vs 1,2% pour *Mentha* × *piperita* L. et 1,3% pour *Lavandula angustifolia* Mill.

Les résultats obtenus confirment la relation chimiotaxonomique entre le genre Phlomis et d'autres genres de la famille des Lamiaceae **(Frezza et al., 2019a)**

Tous les composés ont été isolés pour la première fois de *P. bovei*. Les composés **1-4, 6-8, 11, 12, 15** et **16** ont déjà été isolés dans différentes espèces du même genre (Tableau 48). La présence de ces composés indique donc la relation phylogénétique étroite entre les espèces du genre Phlomis.

Les composés **5, 9, 10, 13, 14** ont été isolés du genre *Phlomis* pour la première fois, ils pourraient servir de marqueurs chimiotaxonomiques pour différencier *P. bovei* des autres espèces du même genre.

Le composé **15** a été isolé que dans le genre *Phlomis,* il peut être alors utilisé comme marqueur pour le genre. Le composé **5** a été obtenu pour la première fois dans l'ordre des Lamiales, précédemment rapporté chez les *Zygophyllales* **(Nebieridze et al., 2018)**, sachant que deux molécules de configurations différentes de ce composé ont été isolées: le débiloside B d'*Equisetum debile* **(Xu et al., 2006, Kanchanapoom et al., 2007)**, et le phlomisionoside de *Phlomis spinidens*, *Lagopsis supina* (Steph.) Ik.-Gal.ex Knorr **(Zhang et al., 2015)** et *Brassica oleracea var. acephala* **(Kang et al., 2018).**

Le composé **6** (Verbascoside), représente l'un des principaux phényléthanoïdes glycosides des Lamiaceae. Lors de notre recherche documentaire, il a été constaté que le verbascoside est également appelé actéoside **(Zhang et al., 2019)**. Ainsi, il a été recommandé d'utiliser l'un des deux termes verbascoside ou l'actéoside; cependant, l'autre nom doit également figurer dans le résumé de l'article ou la liste des mots clés, pour permettre d'éviter toute confusion supplémentaire **(Alipieva et al., 2014).**

Les composés **1, 2, 3, 6, 7, 8** ont été rapportés dans le genre *Lamiophlomis* **(Tan et al., 2007, Zhang et al., 2017b, Jian et al., 2018)**. Les composés **1, 2, 3, 8** ont été isolés du genre *Erymostachys* **(Çalış et al., 2007, Delazar et al., 2013)**, les composés **1, 2, 3, 10** de *Lamium* **(Eigtved et al., 1974, Yalçin et al., 2008, Kikuchi et al., 2009)**, les composés **11, 12** de *Dracocephalum* **(Selenge et al., 2013, Li et al., 2016)**, les composés **13, 14** de *Callicarpa* **(Ono et al., 2009)**, les composés **4, 14, 16** de *Premna* **(Yuasa et al., 1993, Sudo et al., 2000, Hang et al., 2008)**, également de la famille Lamiaceae , ce qui indique la relation étroite entre ces genres.

Les composés **1, 2, 6, 8, 9** ont été rapportés dans la famille des Verbenaceae **(Fauvel et al., 1993, Timoteo et al., 2015, Yue et al., 2015, Mohamed et al., 2017, Gibitz-Eisath et**

al., 2018) et la famille des Orobanchacées **(Lin et al., 2004, Zhang et al., 2008, Frezza et al., 2019b)**. Les composés **2, 8, 13** ont été isolés des Acanthaceae **(Kanchanapoom et al., 2001, Tanaka et al., 2004, Senger et al., 2016)**, le composé **8** des Bignoniaceae **(Martin et al., 2007),** les composé **11** des Oleaceae **(Sun et al., 2007)**, ceci indique la relation étroite entre la classification phylogénétique (APG) et la chimiotaxonomie, puisque les Acanthaceae, les Bignoniaceae, les Oleaceae, les Orobanchaceae, les Lamiaceae et les Verbenaceae sont contenues dans le même ordre, celui des Lamiales.

Tableau 48: Composés isolés du genre *Phlomis*

Composé	Espèce	Référence
1	*P. longifolia var. longifolia* *P. lunariifolia* Sm. *P. rigida* Labill. *P. spinidens* Nevski *P. tuberosa* L.	**(Ersoz et al., 2001)** **(Calis et Kirmizibekmez, 2004)** **(Takeda et al., 2000)** **(Takeda et al., 2001)** **(Calis et al., 2005b)**
2	*P. likiangensis* C.Y.Wu *P. longifolia var. longifolia* *P. lunariifolia* Sm. *P. rigida* Labill. *P. rotata* ex Hook.f. *P. samia* L. *P. spinidens Nevski* *P. tuberosa L.* *P. umbrosa Turcz.* *P. younghusbandi* Mukerjee *P. umbrosa* Turcz.	**(Li et al., 2017a)** **(Ersoz et al., 2001)** **(Calis et Kirmizibekmez, 2004)** **(Takeda et al., 2000)** **(Zhang et al., 1991)** **(Yalçin et al., 2003a)** **(Takeda et al., 2001)** **(Ersöz et al., 2001)** **(Shang et al., 2011)** **(Kasai et al., 1994)** **(Shang et al., 2011)**
3	*P.likiangensis C.Y.Wu* *P.medicinalis Diels* *P.mongolica Turcz.* *P.tuberosa L.* *P.umbrosa Turcz.* *P.younghusbandi Mukerjee*	**(Li et al., 2017a)** **(Yu et al., 2006)** **(Zhang et Li, 1996)** **(Alipieva et al., 2000)** **(Shang et al., 2011)** **(Kasai et al., 1994)**
4	*P. aurea Decne.* *P. lunariifolia Sm.* *P. samia L.* *P. viscosa Poir.*	**(Kamel et al., 2000)** **(Calis et Kirmizibekmez, 2004)** **(Yalçin et al., 2003b)** **(Calis et al., 2005a)**
6	*P. amanica Vierh.* *P. armeniaca Willd.* *P. aurea Decne.* *P. brunneogaleata* Hub.-Mor. *P. carica* Rech.f. *P. caucasica Rech.f.* *P. crinita Cav.* *P. fruticosa L.*	**(Yalçın Funda et al., 2006)** **(Saracoglu et al., 1995)** **(Kamel et al., 2000)** **(Kirmizibekmez et al., 2004)** **(Yalçin et al., 2003a)** **(Delazar et al., 2008)** **(Kabouche et al., 2005)** **(Ersoz et al., 2002)**
7	*P. nissolii L.* *P. kurdica Rech.f.*	**(Kırmızıbekmez et al., 2004)** **(Bader et al., 2015)**

8	*P. aurea Decne.* *P. brunneogaleata Hub.-Mor.* *P. caucasica Rech.f.* *P. grandiflora H.S.Thomps.* *P. fruticosa L.* *P. integrifolia Hub.-Mor.* *P. kotschyana Hub.-Mor.* *P. kurdica Rech.f.* *P. lanceolata* Boiss. & Hohen	**(Aboutabl et al., 2002)** **(Kirmizibekmez et al., 2004)** **(Delazar et al., 2008)** **(Ersoz et al., 2002)** **(Ersoz et al., 2002)** **(Saracoglu et al., 2003)** **(Harput et al., 2004)** **(Bader et al., 2015)** **(Nazemiyeh et al., 2008)**
11	*P. amanica Vierh.* *P. aurea* Decne. *P. brunneogaleata* Hub.-Mor. *P. capitata* Boiss. *P. kotschyana* Hub.-Mor.	**(Yalçın Funda et al., 2006)** **(Kamel et al., 2000)** **(Kirmizibekmez et al., 2004)** **(Kırmızıbekmez et al., 2004)** **(Harput et al., 2004)**
12	*P. chimerae Boissieu* *P. lunariifolia Sm.* *P. lycia* D.Don *P. tuberosa L.*	**(Ersöz et al., 2002)** **(Calis et Kirmizibekmez, 2004)** **(Iclal, 2002)** **(Calis et al., 2005b)**
15	*P. stewartii* Hook.f. *P. umbrosa Turcz.*	**(Riaz et al., 2019)** **(Liu et al., 2008)**
16	*P. samia L.*	**(Yalçin et al., 2003b)**

Chapitre 4 : Activités biologiques

4.1 Matériels et méthodes

4.1.1 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *P.bovei*

4.1.1.1 Principe du test de DPPH

De nombreuses méthodes sont développées permettant d'évaluer les capacités antioxydantes des composés naturels ou des extraits de plantes. La plus simple et la plus utilisée, fait appel à l'utilisation d'un radical libre, le DPPH.

En présence des antioxydants, le radical DPPH (diphénylpicryl hydrayl) ayant une couleur violette est réduit en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Figure 131) **(Ali et al., 2019, Gontijo et al., 2019).**

Cette décoloration est mesurable par un spectrophotomètre UV/ Vis (*Varian Cary 50 Bio*, USA) à 517 nm. La méthode est généralement standardisée par rapport à un contrôle positif réalisé avec un antioxydant standard : Acide ascorbique (Vit C) et le Butyl-hydroxy-toluène (BHT).

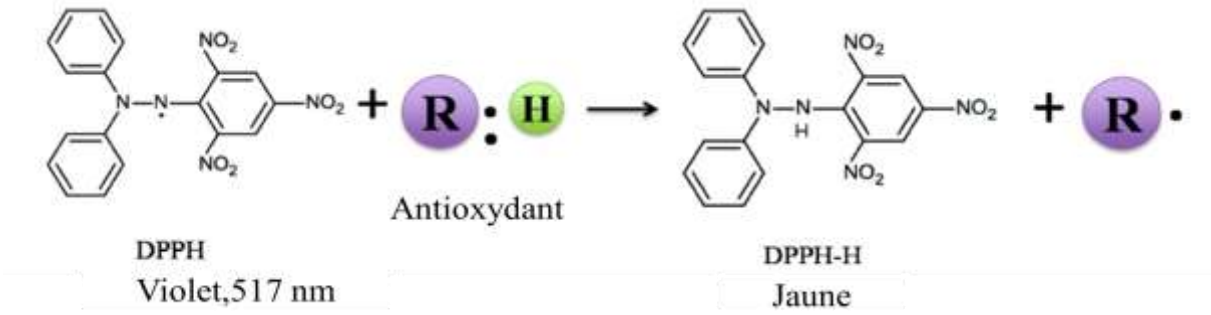


Figure 131 : Principe de la réduction du radical DPPH **(Liang et Kitts, 2014).**

4.1.1.2 Mode opératoire

Pratiquement, une solution de DPPH est préparée en solubilisant 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. En se basant sur la médecine traditionnelle où seules les feuilles de *P.bovei* sont utilisées, différents extraits de feuilles de polarités croissantes ont été testés : extrait aqueux, ethanolique, acétate d'éthyle, ainsi qu'un extrait hydroalcoolique EtOH -H_2O (75 :35).

Un volume de 1 ml de chaque extrait (0, 200, 400, 600, 800, 1000 µg/l) et des antioxydants de référence : le BHT et l'acide ascorbique de différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/l) sont ajoutés à 4 ml de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH

est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol.
L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante :

Activité anti-radicalaire (%) = [(Ac –At) / Ac] x 100

• **Ac** : Absorbance du contrôle (DPPH).

• **At** : Absorbance de l'extrait testé.

Un paramètre est introduit pour la caractérisation du pouvoir anti-radicalaire; la concentration effective à 50% (EC50) aussi appelée concentration inhibitrice (IC 50) a été déterminée pour chaque extrait, elle est définie comme étant la concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% l'activité du radical libre DPPH **(Fettach et al., 2019)**. La valeur IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un extrait ou d'une molécule.

4.1.2 Evaluation de l'activité cicatrisante

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité cicatrisante d'un extrait brut ou une molécule, le recours à un modèle expérimentale est indispensable. Actuellement, plusieurs modèles sont proposés, le modèle in silico, *in vitro* et *in vivo*. Il n'y a pas un seul modèle approprié pour qu'une étude soit efficace.

Le modèle animal *in vivo* malgré son inconvénient reste la meilleure alternative que le modèle *in vitro* pour apprécier au mieux le phénomène de cicatrisation **(Sami et al., 2019)**. Les rongeurs resteront le modèle animal idéal pour étudier ce phénomène en raison de leur facilité d'utilisation, leur coût et la reproductibilité **(Trøstrup et al., 2016)**, avant de passer aux essais sur l'homme.

4.1.2.1 Matériels

4.1.2.1.1 Matériel végétal

Suite aux résultats obtenus lors du calcul des teneurs en polyphénols et l'évaluation de l'activé antioxydante des différents extraits de feuilles de *P.bovei,* l'extrait hydroalcoolique (B) a été retenu pour apprécier son activité cicatrisante d'autant plus que de nombreuses plantes qui se sont révélées avoir des propriétés cicatrisantes possèdent également un fort pouvoir antioxydant **(Süntar et al., 2012, Bhat et al., 2016).**

4.1.2.1.2 Animaux de laboratoire

Des rats Wistar de sexe mâle, dont le poids varie entre 200 à 250 g, ont été fournis par le laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques d'Alger. Ils ont été nourris par une alimentation standard et de l'eau à volonté ; logés par groupes de deux dans des cages en polypropylène maintenues dans des conditions standards (cycle de 12 H de lumière-obscurité, température de 20°C).

La litière utilisée correspond à la sciure de bois. Elle était renouvelée aussi souvent que nécessaire (généralement tous les deux jours) pour assurer le bon état hygiénique des animaux.

Les rats ont été acclimatés aux conditions du laboratoire pendant un mois, avant le début de l'étude au niveau de l'animalerie de la faculté de médecine d'Oran.

4.1.2.2 Méthodes

4.1.2.2.1 Préparation de l'extrait

Les feuilles en poudre séchées à l'air (100 g) ont été dégraissées avec de l'éther de pétrole (500 ml) et extraites trois fois avec 1000 ml EtOH-H_2O (75:35) jusqu'à épuisement.

Le solvant a été filtré puis évaporé sous pression réduite à sec avec un évaporateur rotatif à 50°C. L'extrait sec a été repris avec une petite quantité d'eau puis congelé et lyophilisé pendant 48 H **(Pertuit et al., 2017)**.

4.1.2.2.2 Préparation des pommades

Selon la pharmacopée européenne, il existe trois types de pommades :

- Les pommades hydrophobes ou lipophiles : Elles ne peuvent absorber que de petites quantités d'eau. Les excipients les plus communément employés sont la vaseline, la paraffine.
- Les pommades hydrophiles : les excipients utilisés sont miscibles à l'eau tel que le polyéthylène glycol ou macrogols.
- Les pommades absorbant l'eau : Elles peuvent absorber une quantité importante d'eau ce qui conduit par conséquent à l'obtention d'émulsions. Leurs excipients sont ceux de pommades hydrophobes dans lesquels sont incorporés des émulsifiants de type eau dans l'huile E/H (graisse de laine, esters de sorbitan, acides gras), ou de type H/E (polysorbates, esters d'acide gras).

Dans le but de choisir le type de pommade et la formule galénique adaptée, nous avons effectué plusieurs essais avec différents excipients de telle sorte à obtenir une pommade homogène de consistance convenable qui permet un étalement facile (La vaseline seule, l'huile de paraffine seule, vaseline et l'huile de paraffine, et en dernier la vaseline, l'huile de

paraffine et lanoline...). Cette dernière pommade qui contient le plus d'excipients par rapport aux autres a été préparée comme suit :

Dans un premier temps, l'extrait sec de feuilles de *P.bovei* a été rajouté à lanoline, l'ensemble est trituré pendant 20 à 30 minutes jusqu'à obtention d'une préparation homogène. L'huile de paraffine est rajoutée par la suite en petite quantité tous en triturant. La vaseline a été ajoutée en dernier lieu. La trituration a été maintenue pendant toute l'opération jusqu'à l'obtention des pommades homogènes.

Lors de la préparation de la pommade de base, les excipients sont ajoutés et triturés dans le même ordre sans ajout de l'extrait végétal.

Dans la présente étude, nous avons formulé deux pommades à deux concentrations différentes (1% et 5%) à base de l'extrait sec hydroethanolique des feuilles de l'échantillon (B) et une pommade de base constituée d'excipients seuls. Nous les avons comparés à une pommade de référence à base d'extrait sec de *Centella asiatica* à 1% commercialisée sous le nom de (Madécassol 1%).

Les pommades préparées ont été étiquetées, conservées dans des pots opaques en polypropylène à température ambiante.

4.1.2.2.3 Contrôle qualité des pommades

4.1.2.2.3.1 Caractères organoleptiques

L'étude des caractères organoleptiques a été réalisée à travers l'appréciation de la couleur, de la consistance et de l'odeur de la préparation.

4.1.2.2.3.2 Homogénéité

Le contrôle de l'homogénéité de la pommade s'est effectué en étalant chaque préparation sur une surface plane en couche mince à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans l'excipient a été notée. Un examen macroscopique est souvent complété par une observation microscopique. Une petite quantité de pommade a été diluée dans quelques gouttes de l'huile de paraffine, ensuite étalée entre lame et lamelle et observée sous microscope au faible grossissement.

4.1.2.2.3.3 Mesure du pH

Le pH a été déterminé en mesurant celui d'une dilution à 1/10 de la pommade dans de l'eau distillée chauffée à 40°C.

4.1.2.2.3.4 Test de stabilité

Dans le but de suivre la stabilité des pommades formulées, l'étude a été réalisée pendant un mois avant le début du protocole. Plusieurs paramètres ont été notés tels que la couleur, l'odeur, la consistance, l'homogénéité et le pH **(Mukherjee et al., 2013)**.

4.1.2.2.4 Test de tolérance cutanée

Le test de tolérance cutanée réalisé sur un model animal vise à prédire le risque toxicologique chez l'homme, ainsi on a jugé utile d'évaluer la pommade la plus concentrée c'est-à-dire celle dosée à 5 %.

Pour évaluer la tolérance cutanée de la pommade PbF 5%, on a eu recours au test de Draize . Il s'agit d'un protocole d'expérimentation animale mis au point en 1944 par John H. Draize et Jacob M. Spines, toxicologues de la *Food and Drug Administration* (FDA). Le protocole consiste à tester un produit sur la peau d'un animal afin d'évaluer son innocuité dermatologique **(Draize et al., 1944, Cohen Y, 1992, Lulekal et al., 2019).**

Le test doit être effectué initialement sur un seul animal, en particulier lorsque l'on soupçonne que l'extrait est irritant, si cela sera confirmé aucun autre essai sur les animaux n'est nécessaire. Selon les directives de l'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), si aucun effet irritant n'est observé lors du test initial, la réponse doit être confirmée avec d'autres animaux supplémentaires **(OCDE, 2015)**

4.1.2.2.4.1 Mode opératoire

Le dos d'un seul rat a été rasé puis divisé en deux zones (Figure 132). Sur l'une des zones la pommade est appliquée directement, sur l'autre zone, elle est appliquée après scarification, par la suite six (6) rats dont le poids varie entre (200 g et 250 g) ont été rajoutés pour confirmer le test, selon le protocole suivant :

- Les rats ont été anesthésiés par l'éther.
- Le dos et les flancs des rats ont été tondu pour dégager une surface d'environ 5× 3 cm^2.
- A l'aide d'une lame de bistouri stérile, on a effectué à droite de l'axe vertébral, trois scarifications parallèles sur une longueur d'environ 2,5 cm, espacées d'environ 0,5 cm. Les scarifications de l'épiderme sont réalisées sans atteindre le derme.
- La pommade a été appliquée sur la peau à la fois sur la zone scarifiée et non scarifiée à raison de 0,5 g.

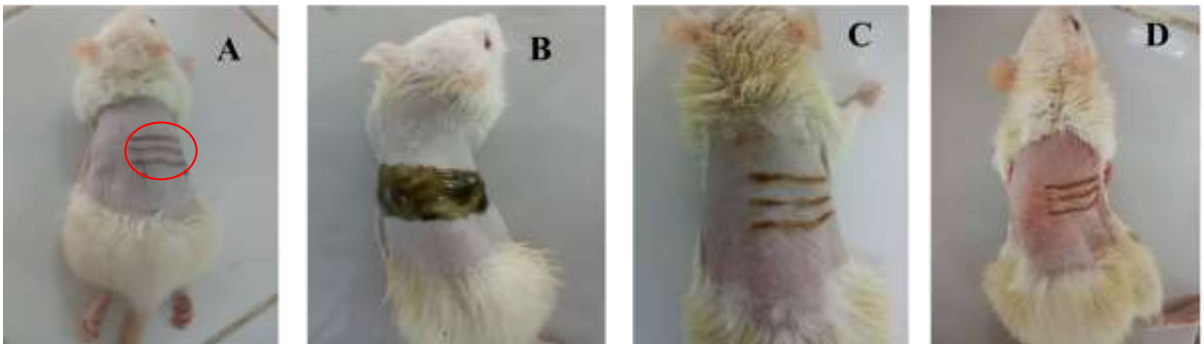


Figure 132 : Test de tolérance cutanée

A: Zone de scarification, **B**: Application de la pommade, **C**: 24H post -scarification, **D**:72H post -scarification

Des lectures sont faites à 24H et 72H après application de la pommade afin de rechercher l'apparition d'un érythème et de l'œdème (Tableau 49) **(Kamkaen et al., 2007).**
L'indice d'irritation primaire de la peau (IP) a été calculé comme suit **(Belkhodja, 2017)** :

IP = ∑ (œdème + érythème) flanc scarifié +∑ (œdème + érythème) flanc intact / 24

Avec : 24 = nombre de rats (6) x nombre des zones testées (scarifiée et saine = 2) x nombre de types d'irritations (œdème et érythème = 2).

L'indice (IP) permet de classer la pommade en 4 catégories :

- Pommade non irritante, IP < 0,5.
- Pommade légèrement irritante, 0,5 < IP < 2.
- Pommade moyennement irritante, 2 < IP < 5.
- Pommade très irritante, 5 < IP < 8.

Tableau 49: Appréciation de l'œdème et l'érythème selon l'échelle numérique de DRAIZE **(Draize et al., 1944).**

Symptômes	**Réaction d'irritation**
Erythème	
Pas d'érythème	0
Léger érythème (à peine visible)	1
Erythème bien visible	2
Erythème important	3
Erythème grave (rouge pourpre) avec escarres	4
Formation d'Œdème	
Pas d'œdème	0
Très léger œdème	1
Léger œdème (apparent)	2
Œdème moyen (épaisseur d'environ 1 mm)	3
Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm)	4

4.1.2.2.5 Protocole de l'évaluation de l'activité cicatrisante

Le model cutané excisionnel profond (full thikness) a été adopté. Le protocole a été mis au point après avoir consulté plusieurs articles scientifiques **(Suntar et al., 2011, Ansell et al., 2014, Joshi et al., 2016, Ergene Oz et al., 2017, Tumen et al., 2018).**

Après avoir anesthésié les rats par l'éther éthylique, une épilation de la zone dorsale a été effectuée par une tendeuse électrique. Le gel de xylocaïne a été appliqué comme anesthésiant local. La zone dorsale est ensuite désinfectée à l'aide d'un coton imbibé d'éthanol à 70%.

Avant excision de la peau, la disparition des différents reflexes ont été vérifiés : le reflexe podal, la disparition des mouvements volontaires, l'absence de réponses lors d'une stimulation douloureuse, comme le pincement des espaces inter-digités, ou de la base de la queue.

4.1.2.2.5.1 Mode opératoire

L'excision de la peau a été réalisée après avoir tracé un rectangle de 400 mm^2 à l'aide d'un gabarit sur le dos de l'animal. Il s'agit d'une excision profonde. Après l'opération, les animaux ont été placés dans des cages séparées pour éviter toute forme de bagarre qui peut fausser les résultats. Des photos ont été prises tous les jours du premier jour jusqu'à la fin du protocole.

Les rats ont été repartis par la suite en 5 groupes de 7 rats, où chaque cage a été étiquetée (Figure 133) :

Groupe 1 : non traités.

Groupe 2 : traités par la pommade de base.

Groupe 3 : traités par la pommade à base de feuilles de *P.bovei* à 1%.

Groupe 4 : traités par la pommade à base de feuilles *P.bovei* à 5%.

Groupe 5 : lot référence, traité par Madécassol crème 1% **(Süntar et al., 2010, Suntar et al., 2011, Ben Djemaa et al., 2016, Ozbilgin et al., 2018, Bektas et al., 2019)**

Le recours à un groupe de rat traité par une pommade de base ne contenant que les excipients seuls est vivement recommandé **(FDA, 2001).**



Figure 133 : Répartition des rats dans des groupes étiquetés

4.1.2.2.5.2 Evaluation macroscopique

Afin de suivre l'évolution du processus de cicatrisation , une échelle de cotation est utilisée, qui tient compte de quatre paramètres **(Qiu et al., 2003) :**

- La surface de la plaie
- La tuméfaction
- La rougeur
- L'exsudat.

Chacun de ces quatre paramètres a reçu une valeur numérique de 0 à 3 (Tableau 50). Les valeurs sont additionnées, et la moyenne des scores est attribuée pour chaque groupe.
Un score de 0 indique une meilleure évolution de la plaie, alors qu'un score maximal de 12 indique le contraire.

Tableau 50: Valeurs numériques attribués aux paramètres de cicatrisation

Score	Tuméfaction	Surface	Exsudat	Rougeur
0	Absente	Réduction importante	Absence	Absente
1	Faible	Réduction modérée	Faible	Faible
2	Modérée	Réduction faible	Modéré	Modérée
3	Importante	Aucune réduction	Important	Importante

4.1.2.2.5.3 Étude planimétrique

Dans le but de suivre le processus de cicatrisation d'une manière quantitative, on a eu recours à une étude planimétrique grâce au calcul de la surface de réduction de la plaie et de son évolution dans le temps.

Les surfaces des plaies dans les différents lots ont été tracées en utilisant un papier transparent un jour sur deux, pendant toute la durée de l'expérimentation, puis mesurées grâce à un logiciel AutoCAD (Autodesk 2015). Le pourcentage de réduction de la plaie a été calculé comme suit **(Tessema et al., 2018, Güzel et al., 2019)** :

$$\text{Pourcentage de réduction de la plaie} = \frac{\text{Surface initiale (J. 0)} - \text{Surface (J. n)}}{\text{Surface initiale (J. 0)}} \times 100$$

Le temps d'épithélialisation correspond au nombre de jours requis pour que la cicatrice disparaisse et ne laissant aucune blessure à vif.

4.1.2.2.5.4 Etude histologique

Des prélèvements du tissu en voie de cicatrisation, ont été réalisés tous les 4 jours (de J_4 à J_{21}) pour observer l'épithélialisation, la collagenèse et l'angiogenèse. Les animaux ont d'abord été anesthésiés avec de l'éther, par la suite, on a procédé à une excision du tissu une fois cicatrisé à l'aide d'un bistouri stérile.

Chaque tissu a été étalé et fixé sur un support rigide, puis conservé dans un flacon en verre contenant du formol à 10 % (Figure 134). Les échantillons ont été acheminés au laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital pédiatrique de Canastel dans les 24 H pour un examen histopathologique.

Selon la phase de cicatrisation, plusieurs éléments ont été observés. Les éléments observés dans la phase inflammatoire et vasculaire sont : l'ulcération, la congestion vasculaire, l'œdème/exsudat, la migration des PNN et l'enduit fibrino-leucocytaire (EFL). Les éléments observés dans la phase de formation du tissu de granulation sont : la régénération épidermique, les bourgeons des cellules endothéliales, les néovaisseaux, la prolifération des myofibroblastes et fibroblastes, le dépôt des fibres de collagènes. Les éléments observés dans la phase de maturation du tissu de granulation/ remodelage sont : les néovaisseaux, les myofibroblastes, les fibroblastes matures, le collagène. Les éléments observés dans la dernière phase (cicatrice fibreuse) sont : la restitution épidermique intégrale et l'apparition du collagène mature.

Protocole de préparation des coupes histologique :

La technique de coloration d'usage courant en histologie et en histopathologie est celle de l'hématoxyline et de l'éosine (désignée par la coloration H/E). Il s'agit d'une coloration bichromatique qui se compose d'un colorant nucléaire : l'hématoxyline (colorant basique), qui colore les noyaux en bleu/violet, en se fixant sur les acides nucléiques, et d'un colorant cytoplasmique : l'éosine (colorant acide) qui permet de colorer le cytoplasme en rose.

La technique de préparation des coupes histologique a été réalisée comme suit :

1- **La fixation :** elle a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion des tissus prélevés dans un grand volume de fixateur. Dans notre cas, le fixateur utilisé est le formol à 10 %. Il faut noter que la fixation augmente la perméabilité à la coloration.

2- **La déshydratation** : le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation par immersion dans deux bains de formol, quatre bains d'éthanol pur, deux bains d'acétone et deux bains de toluène. Cette étape a été réalisée avec un automate de déshydratation de marque Leica TP1020. C'est une étape qui prépare l'inclusion puisque la paraffine est hydrophobe.

3- **Imprégnation** : elle signifie le passage du prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'en éliminer les traces d'EtOH (la paraffine étant non miscible à l'alcool). L'imprégnation était réalisée avec le toluène

4- **L'inclusion** : elle a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue (chauffée à 56° C) donc devenue liquide et qui infiltre alors toute la pièce.

5- **Mise en bloc :** Après l'étape de l'inclusion, la paraffine liquide est coulée dans un petit moule en métal. Après refroidissement (dans un congélateur pendant toute une nuit), on se retrouve alors en présence d'un bloc de paraffine dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

6- **La confection des coupes** : le passage du bloc de paraffine dans un microtome (Leica RM 2125RT, Allemagne) nous a permis de réaliser des coupes sous forme de rubans de 2 à 5 µm d'épaisseur. L'étalement des coupes sur la lame de verre a été réalisé avec l'eau albumineuse.

7- **Déparaffinage** : les lames sont placées sur une plaque chauffante (à 45 - 60°C) pendant 15 min, afin d'obtenir la liquéfaction et donc l'élimination de la paraffine.

8- **Réhydratation** : en immergeant les lames dans deux bains d'alcool (EtOH 96%) puis dans l'eau distillée.

9- **Coloration** : en pratique, la coloration H/E se fait de la manière suivante :

- Un bain de 15 min à l'hématoxyline
- Rinçage à l'eau
- Rinçage à l'éthanol acidifié
- Rinçage au bicarbonate de Na dans le but est de concentrer le premier colorant.
- Un bain d'une minute à l'éosine
- Deux bains de 2 min à l'EtOH 96°
- Nettoyage à l'acétone pendant 40 secondes
- Rinçage au toluène
- Montage entre lame et lamelle



Figure 134 : Préparation des coupes histologique.
A, B : Fixation dans du formol à 10%, **C, D** : Déshydratation, imprégnation, inclusion, **E** : Préparation de blocs de paraffine, **F, G** : Coupes réalisées au microtome.

4.1.2.2.5.5 Analyses biochimiques

4.1.2.2.5.5.1 Dosage de l'hydroxyproline

Le collagène est une protéine extracellulaire prédominante dans le tissu de granulation et l'hydroxyproline fait partie intégrante de la fibre de collagène. Une teneur accrue en hydroxyproline indique une synthèse accrue de collagène qui conduit à une meilleure cicatrisation des plaies. Nous avons ainsi calculé la teneur en hydroxyproline dans les tissus régénérés prélevés le 20^{éme} jour après excision dans les différents groupes.

Pour estimer la concentration de L-hydroxyproline, la méthode de Bergman et Loxley (1963) a été adoptée. Les tissus cicatrisés ont été nettoyés avec une solution saline froide (0,9 % NaCl) et séchés à l'étuve à 60 ° C. Les tissus séchés (100 mg) ont été hydrolysés avec 5 ml d'HCl 6 N à 110 ° C pendant 4 H. L'hydrolysat (2 ml) a été neutralisé à pH 7,0 avec du NaOH 10 N et a été soumis à une oxydation à la chloramine-T 0,056 M (1 ml) et incubé à température ambiante pendant 25 min. Ensuite, 1 ml du réactif Ehrlich 1M a été ajouté aux

échantillons oxydés. L'absorbance de la couleur apparue a été mesurée par spectrophotométrie à 557 nm. Différentes concentrations d'hydroxyproline (10, 20, 40, 60, 80 et 100 µg / ml) ont été préparées pour établir la courbe d'étalonnage. La teneur en L-hydroxyproline a été calculée et exprimée en µg /100 mg de tissu **(Bergman et Loxley, 1963, Bhat et al., 2016).**

4.1.2.2.5.5.2 Dosage de la protéine C réactive

La protéine C réactive (CRP) est une protéine synthétisée par le foie après une inflammation aiguë dans l'organisme. Le dosage du CRP dans le sérum a été estimé par la méthode turbidimétrique en utilisant un kit commercial.

Après avoir anesthésié les rats par l'éther diéthylique, ils sont placés en décubitus latéral. Le prélèvement de sang du sinus retro orbital est effectué à l'aide d'une pipette pasteur. Un volume de sang d'environ 2,5 ml est recueilli dans des tubes secs et centrifugés par la suite à 2500 tours/min pendant 5 min. Le sérum a été récupéré pour faire le dosage du CRP.

4.1.3 Activité antioxydante des molécules pures et approche de la relation structure-activité

Le même protocole décrit lors de l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits de *P.bovei* a été suivi sauf que cette fois-ci 1 ml des composés pures **1, 2, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 15** (1,0 mg dans 1 ml de MeOH à 95%) de différentes concentrations (0, 25, 50, 100, 200, 300 µg/ml) a été ajouté à 4 ml de la solution méthanolique de DPPH 0,1 mmol.

4.1.4 Analyse statistique

Les résultats ont été analysés par un logiciel de gestion de bases de données SPSS 21. L'analyse des résultats de l'activité antioxydante a été effectuée par le test-t de Student qui nous a permis de comparer les moyennes de deux groupes d'échantillons indépendants (A et B).

L'interprétation des résultats de l'activité cicatrisante a été réalisée par deux tests, le test ANOVA un seul facteur (one-way ANOVA) qui est utilisé pour comparer plus de deux moyennes**,** et le test-t de Student qui nous a permis de comparer les moyennes de la réductions des surfaces des plaies des groupes traités par les pommade PbF 1%, PbF5% et la pommade référence avec le groupe témoin traité par la pommade de base.

4.2 Résultats et discussions

4.2.1 Evaluation de l'activité antioxydante

Les extraits étudiés révèlent des propriétés antioxydantes intéressantes (Figure 136). Tous les extraits évalués ont pu réduire le radical libre DPPH violet stable (picrylhydrazyle) en DPPH-H jaune (picrylhydrazine). La décoloration indique une activité de piégeage des radicaux libres par les extraits testés. Les activités antioxydantes obtenues par la méthode au DPPH pour les différents extraits de feuilles de *P.bovei* des deux régions (A) et (B) sont présentées dans le tableau 51. Les extraits étudiés ont montré une activité de piégeage dépendante à la concentration.

La variation de l'activité antioxydante des extraits de l'échantillon A et B est hautement significative (Test Anova, p <0,0001). L'ordre décroissant de l'activité antioxydante est comme suit : extrait hydroalcoolique (A) et (B) > extrait aqueux (B) > extrait ethanolique (B) > extrait ethanolique (A) > extrait aqueux(A) > extrait d'acétate d'éthyle (A) > extrait d'acétate d'éthyle (B). L'activité de piégeage des radicaux DPPH dépend alors du solvant d'extraction. L'activité antioxydante du vit C et du BHT est supérieure à celle des extraits testés (Figure 135).

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH la plus élevée a été obtenue avec l'extrait hydroalcoolique des feuilles de l'échantillon A et B, ce résultat coïncide avec celui de la teneur en polyphénols.

Plusieurs études ont montré une corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante **(Sarikurkcu et al., 2014, Al-Qudah et al., 2018).**

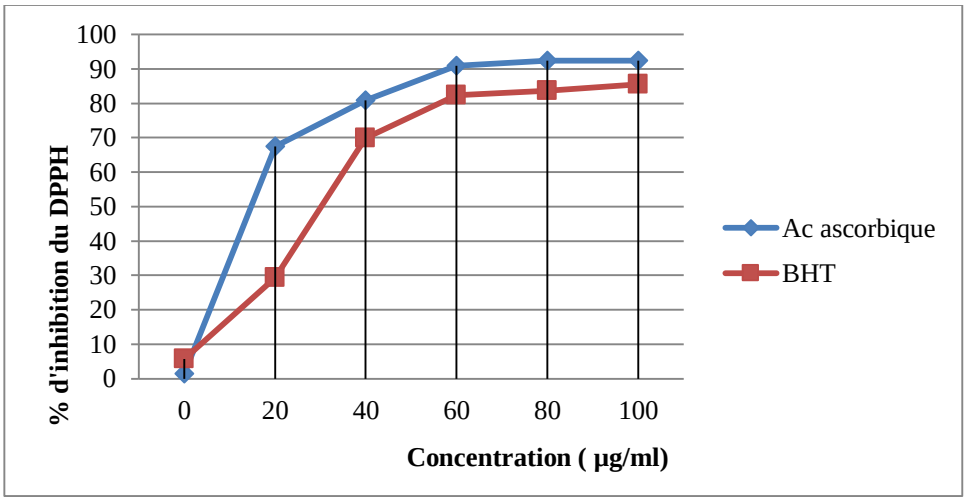


Figure 135: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et le BHT.

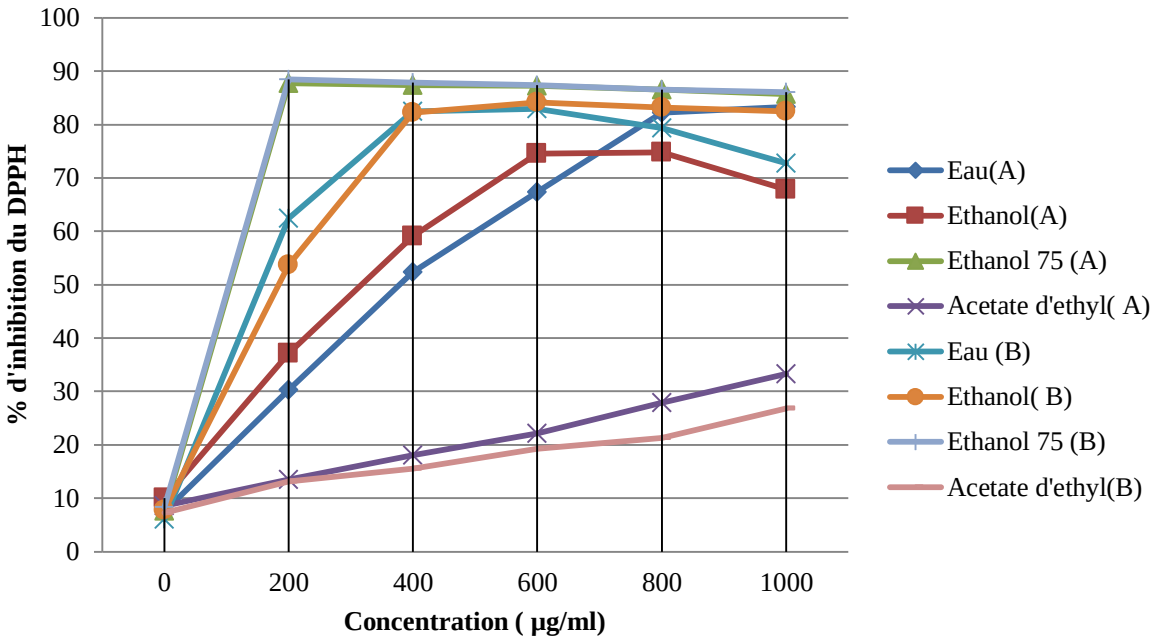


Figure 136 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits de feuilles.

Tableau 51: Concentration efficace (IC 50) des extraits de feuilles de *P.bovei*

		IC 50 (µg/ml)	
		Echantillon A	**Echantillon B**
Extraits	Eau	378,90 ± 0,79	147,83 ± 1,04*
	EtOH	311,96 ± 0,45	187,56 ± 1,28*
	EtOH 75%	96,20 ± 0,75	**96,16 ± 0,76****
	Acétate d'éthyle	>1000	>1000
Références	Acide ascorbique	13 ± 0,95	
	BHT	30 ± 1,02	

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD
Test t Student, Echantillon **B** vs Echantillon **A**,*P<0, 0001, **P>0, 05

Dans une étude réalisée en 2014 sur le *Phlomis maximowiczii* , l'activité antiradicalaire de l'extrait d'acétate d'éthyle a enregistré les valeurs les plus basses, ce résultat concorde avec celui obtenu dans notre étude **(Gu et al., 2014).**

Dans une autre étude réalisée en 2016 sur le *Phlomis crinita* récolté à l'ouest de l'Algérie, la valeur IC 50 obtenue de l'extrait ethanolique est de 1120 ± 1,00 µg/ml **(Tamert et Latreche, 2016)**, elle est donc supérieure à la valeur obtenue dans notre extrait ethanolique. On peut ainsi dire que l'activité antioxydante de l'extrait de *P.bovei* est plus élevée que celle de *P.crinita.*

4.2.2 Evaluation de l'activité cicatrisante

4.2.2.1 Rendement d'extraction

Le poids du résidu sec obtenu après lyophilisation est de 20 g, soit un rendement d'extraction de 20 %.

4.2.2.2 Préparation des pommades

Après plusieurs essais réalisés avec différents excipients dans le but de choisir la meilleure formule galénique, notre choix s'est porté sur trois pommades absorbants l'eau à base de vaseline, de l'huile de paraffine et de lanoline **(Gramma et al., 2016).**

Les quantités des excipients ont été ajustées jusqu'à l'obtention d'une pommade de consistance convenable qui permet un étalement facile (Tableau 52).

Tableau 52: Formules galéniques de préparation des pommades.

Pommade	P.Base	PbF 1%	PbF 5%
Extrait sec (g)	0	1	5
Lanoline (g)	1.01	1	5
Huile de paraffine (g)	39.40	39	35.82
Vaseline (g)	59.59	59	54.18
Total (g)	100	100	100

4.2.2.3 Contrôle qualité des pommades

4.2.2.3.1 Caractères organoleptiques

Les résultats de l'examen macroscopique des pommades figurent dans le tableau 53

Tableau 53 : Résultats des examens macroscopique des pommades.

Contrôle	P.Base	PbF 1%	PbF 5%
Couleur	Blanche	Vert moutarde	Vert noir
Consistance	Molle		
Odeur	Odeur de la lanoline	Odeur de la lanoline mélangée à celle de l'extrait de la plante	Odeur de la lanoline mélangée à celle de l'extrait de la plante

4.2.2.3.2 Homogénéité

L'examen macroscopique a montré que les trois pommades préparées étaient toutes homogènes. Le test a été confirmé par un examen microscopique (Figure 137) où les extraits étaient bien dispersés dans la pommade de base (Tableau 54).

Tableau 54 : Contrôle de l'homogénéité des pommades

Contrôle	P.Base	PbF 1%	PbF 5%
Examen macroscopique	Bonne	Bonne	Bonne
Examen microscopique	Quelque gouttelette d'émulsion à distribution homogène	Quelque particule de taille fine à distribution régulière et des gouttelettes d'émulsion	De nombreuses particules de taille fine à distribution régulière, et de grosses gouttelettes d'émulsion

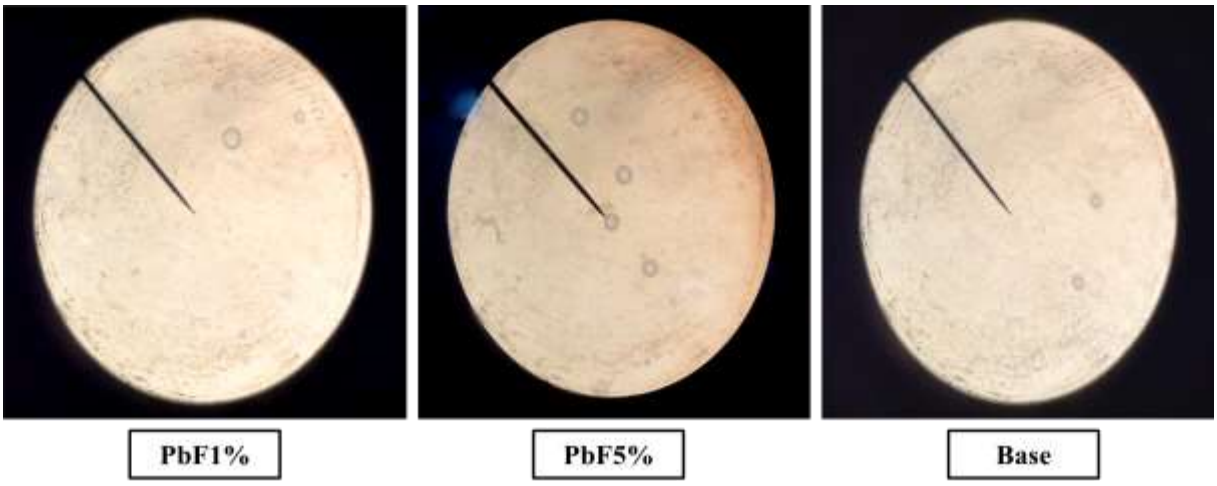


Figure 137 : Examen microscopique des pommades

4.2.2.3.3 Mesure du pH

Le pH retrouvé est de 6.50 pour la pommade PbF 1%, 6.34 pour la pommade PbF 5% et 7.10 pour la pommade de base. Ces résultats étant proches de la neutralité laissent supposer que les pommades préparées sont non irritantes pour la peau.

4.2.2.3.4 Test de stabilité des pommades

Suite au test de stabilité réalisé sur les trois pommades préparées après 30 jours de conservation, nous n'avons constaté aucun changement des caractères macroscopiques. Les

pommades préparées n'ont montré aucune séparation de phases, aucune odeur désagréable. Une légère variation du pH non significative a été notée (Tableau 55).

Tableau 55: Résultats du test de stabilité réalisé après 30 jours de conservation des pommades préparés.

Paramètre	**P.Base**	**PbF 1%**	**PbF 5%**
Couleur	Stable	Stable	Stable
Odeur	Stable	Stable	Stable
Homogénéité	Stable	Stable	Stable
pH	[7.10-7.47]	[6.50-6.90]	[6.34-6.96]

4.2.2.4 Test de tolérance cutanée

Dans le but de confirmer l'innocuité cutanée des pommades préparées, nous avons réalisé le test de tolérance cutanée sur la pommade la plus concentrée (PbF 5%). Le test a été effectué en premier lieu sur un seul rat (Figure 132). L'indice IP calculé = 0.

La réponse a été confirmée par la suite sur 6 autres rats. Les résultats de l'indice d'irritation primaire cutanée sont présentés dans le tableau 56

Tableau 56: Résultats du test de tolérance cutanée

Rats N°	**Peau scarifiée**				**Peau saine**			
	24 H		72 H		24 H		72 H	
	Er	OE	Er	OE	Er	OE	Er	OE
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

Er : Erythème, OE : Œdème

L'indice d'irritation primaire cutané de la pommade à 5% de l'extrait hydroalcoolique de la plante a été calculé comme suit : IP = 2/ 24 = 0,083. La pommade est donc non irritante pour la peau.

Nous avons remarqué une absence de réaction cutanée après 24 et 72 H. Les phénomènes se résument uniquement à des érythèmes légers chez deux rats sur les zones scarifiées et qui ont remarquablement disparus après 72 H.

Notre résultat rejoint celui de Tessema el collaborateurs en 2018 (IP<0,5) qui ont réalisé le même test sur un extrait de *Brucea antidysentrica* , Simaroubaceae **(Tessema et al., 2018)**

4.2.2.5 Evaluation macroscopique de l'activité cicatrisante

Les moyennes des scores calculées sont représentées dans le tableau 57. Plus la valeur d'un score est élevée plus l'évolution de la cicatrisation est mauvaise. La différence entre les scores obtenues dans le groupe 2 et les autres groupes 1, 3, 4, 5 n'est pas significative (P > 0,05), toutefois, les scores les plus élevés ont été enregistrés chez le groupe 1 (non traité) à J3, J5, J7, J9, ce qui témoigne une mauvaise évolution de la cicatrisation par rapport aux autre groupes.

Un résultat similaire a été obtenu dans une étude réalisée en 2018 où un exsudat inflammatoire a persisté jusqu'à 6 jours post-excision dans le groupe référence traité par l'acide fusidique alors qu'il était absent dans le groupe traité par la pommade à base d'*Alchemilla vulgaris* et *Mimosa* **(Choi et al., 2018).**

A ce stade, on peut dire que la phase inflammatoire à été prolongée chez le groupe 1 puisque des rougeurs ont persisté jusqu'à J7 post-excision. A partir de J13 post-excision, une meilleure évolution de la cicatrisation a été constatée dans tous les groupes**.**

Tableau 57: Moyennes des scores calculés dans les differents groupes

Jour	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5
3	3.86 ± 0.37*	3.14 ± 0.89	3.43 ± 0.78*	3.14 ± 0.37*	2.85 ± 0.37*
5	3.66 ± 1.21*	2.83 ± 1.32	2.33 ± 0.51*	2.16 ±0.75*	2.66 ± 0.81*
7	3.16 ± 0.98*	2.16 ±0.75	1.50 ± 1.22*	1.50 ± 0.54*	2.00 ± 1.09*
9	0.83 ± 1.32*	0.40 ± 0.89	0*	0*	0*
11	0.80 ± 0.44*	0.40 ± 0.54	0*	0*	0*
13	0*	0	0*	0*	0*

Les résultats sont attribués en moyenne ±SD
(Test t Student, * *p* >0.05 *vs* groupe 2).

4.2.2.6 Etude planimétrique

Le pourcentage de la réduction de la surface de plaie a été calculé de J1 à J19 à deux jours d'intervalle (Figure 138) .On a constaté que la réduction de la surface des plaies dans les différents groupes commence clairement à partir du 3 éme jour (Tableau 58).

A partir de J7, le pourcentage de la réduction de la plaie s'avère significativement élevé (P < 0,05) chez les groupes 3, 4 et 5 par rapport au groupe 2. A l'inverse, pratiquement aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes 1 et 2 mis à part à J9. Les premières plaies à être cicatrisées sont celles traitées par les pommades PbF1% et PbF5%.

L'évaluation de l'activité cicatrisante de *P.bovei* chez les rats Wistar selon le modèle de plaie par excision a montré chez les groupes 3, 4 et 5 une amélioration significative qui est estimée par une réduction de la surface de plaie d'environ 5 % à J17 par rapport aux groupes 1 et 2.

La période d'épithélialisation a été significativement réduite (P <0,05) de 20 jours chez les deux groupes 1 et 2, à 15 jours chez les animaux du groupe 3 et 4, autrement dit , un retard de 5 jours dans la durée de cicatrisation a été estimée chez le groupe non traité et celui traité par la pommade de base. La cicatrisation des plaies chez les rats du groupe 5 a été observée le 17^{éme} jour comme indiqué dans le tableau 58.

Tableau 58: Moyennes des pourcentages de réduction de la surface des plaies des différents lots suivis par planimétrie

Jours	**Groupe 1 (% ± SD)**	**Groupe 2 (% ± SD)**	**Groupe 3 (% ± SD)**	**Groupe 4 (% ± SD)**	**Groupe 5 (% ± SD)**
J1	7.58 ± 1.07**	7.94 ± 1.17	9.65± 0.72*	9.57± 0.90*	8.90±1.07**
J3	16.83 ± 1.33**	15.39±1.76	19.32 ± 1.47*	21.39 ±1.39*	19.55 ± 1.67*
J5	35.16 ± 2.08**	33.16 ± 1.04	37.40 ±1.62*	40.66 ±2.02*	35.93± 1.33*
J7	51.84 ±3.38**	51.72±1.58	59.17 ±1.75*	64.36 ±2.32*	57.74±1.52*
J9	69.23 ±5.38*	70.83 ±1.44	78.32±2.57*	81.87±3.55*	79.22 ±3.23*
J11	79.64 ±2.17**	81.58 ± 2.81	92.15±2.26*	93.91 ±3.44*	89.47 ± 1.59*
J13	89.13 ± 2.23**	89.39±1.67	97.13 ± 1.46*	98.84 ± 1.33*	95.47 ± 0.93*
J15	91.00 ± 1.24**	92.49 ± 1.93	100*	100*	98.29 ± 1.17*
J17	95.23 ± 1,00**	95.27 ± 0.91	100*	100*	100*
J19	97.28 ± 1.14**	97.49±0.79	100*	100*	100*

Les résultats sont attribués en moyenne ±SD
n = 7 animaux dans chaque groupe
(* p < 0, 05, **P > 0, 05, test t Student, vs groupe 2)

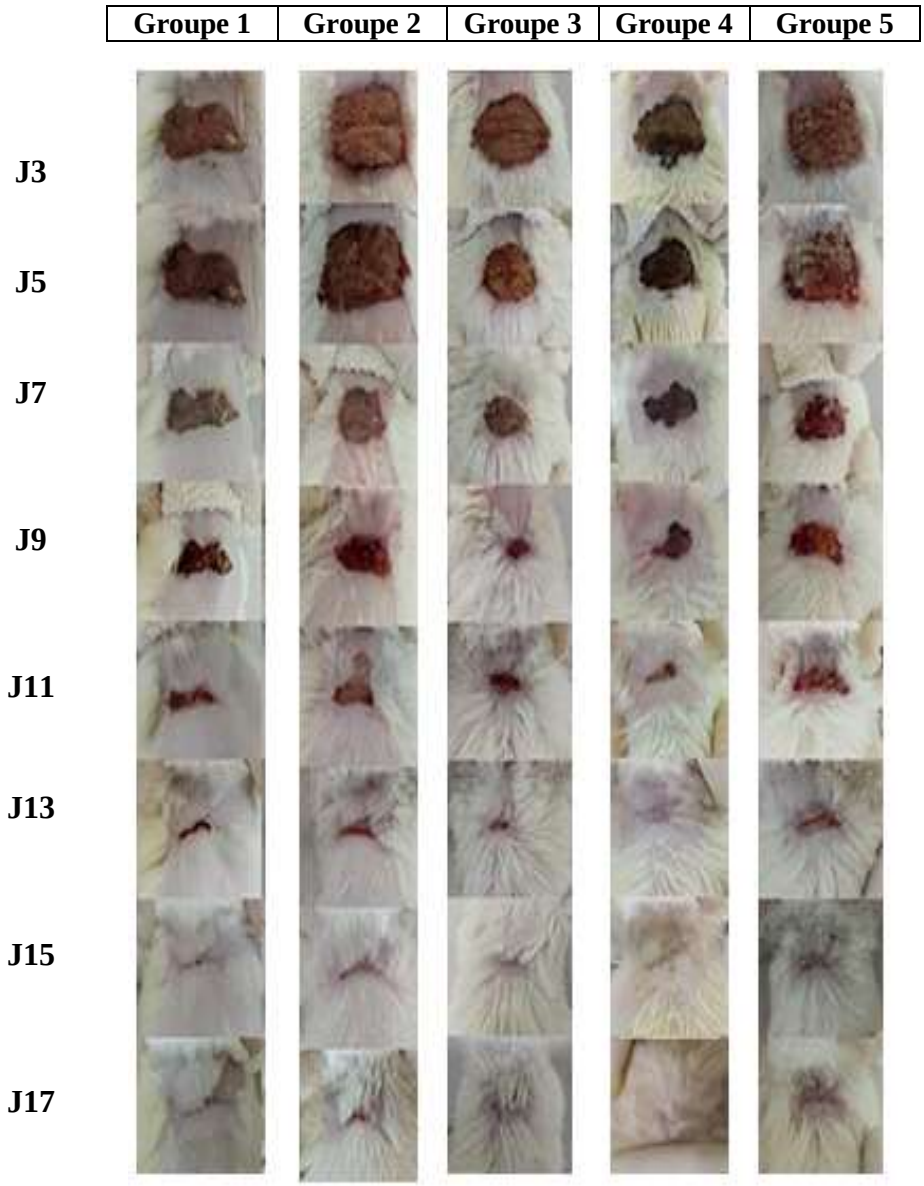


Figure 138: Evolution des plaies de chaque lot en fonction du temps

4.2.2.7 Etude histologique

Dans le but de suivre l'évolution histologique de la cicatrisation dans les différents groupes, des coupes histologiques ont été réalisées et colorées à l'HE à J4, J8, J12, J16, et J20.

Au 4^{éme} jour, une ulcération a été observée au site de la plaie dans les différents groupes mais plus importante dans les deux groupes 1 et 2. Il y a eu également une infiltration et / ou agrégation des leucocytes polymorphonucléaires et mononucléaires dans la profondeur des tissus et à la surface de la plaie dans tous les groupes avec apparition des néovaisseaux dans les groupes 3, 4, 5 (Figure 139).

Au 8^{éme} jour, nous avons constaté une installation d'un EFL dans les différents groupes. On a noté la persistance de l'ulcération et d'un œdème dans le groupe 1 (Figure 140). En plus des cellules inflammatoires, il y avait une prolifération marquée de fibroblastes dans la couche cutanée, en particulier dans les deux groupes 3 et 4. Cependant, dans le groupe 1, la prolifération des fibroblastes était moins remarquable avec la présence de fibroblastes dispersés.

Au 12^{éme} jour et surtout le 16^{éme} jour, les plaies des groupes traitées avec PbF1% et PbF5% ont remarquablement réduit en taille et surtout leurs épidermes ressemblaient étroitement à une peau normale. En outre, leurs dermes étaient principalement remplis de fibres de collagène matures dont le dépôt semble être plus important dans le groupe traité par PbF 5%. En revanche, dans le groupe 1, l'analyse a montré une régénération incomplète de l'épithélium avec présence d'ulcération dans certains endroits ainsi que la présence de collagène fragmenté et mal organisé (Figure 141).

Au 20^{éme} jour, la restauration de l'épiderme a été observée dans tous les groupes sauf dans le groupe 1 où on a constaté un échec de réépithélialisation dans certains endroits. La couche basale était bien formée dans l'ensemble des groupes traités, de plus, dans le derme, la maturation et l'organisation des fibres de collagène étaient similaires (Figure 142).

Suite à l'examen histologique, on a constaté d' une part que la régénération tissulaire était beaucoup plus rapide dans les groupes traités par les pommades PbF1%, PbF5% et la pommade référence. D'autre part, étant donné que première réponse de la cicatrisation est l'inflammation, une réaction inflammatoire prolongée entraîne alors une guérison retardée, ce qui a été observé chez le groupe non traité (persistance de l'œdème, de l'ulcération).

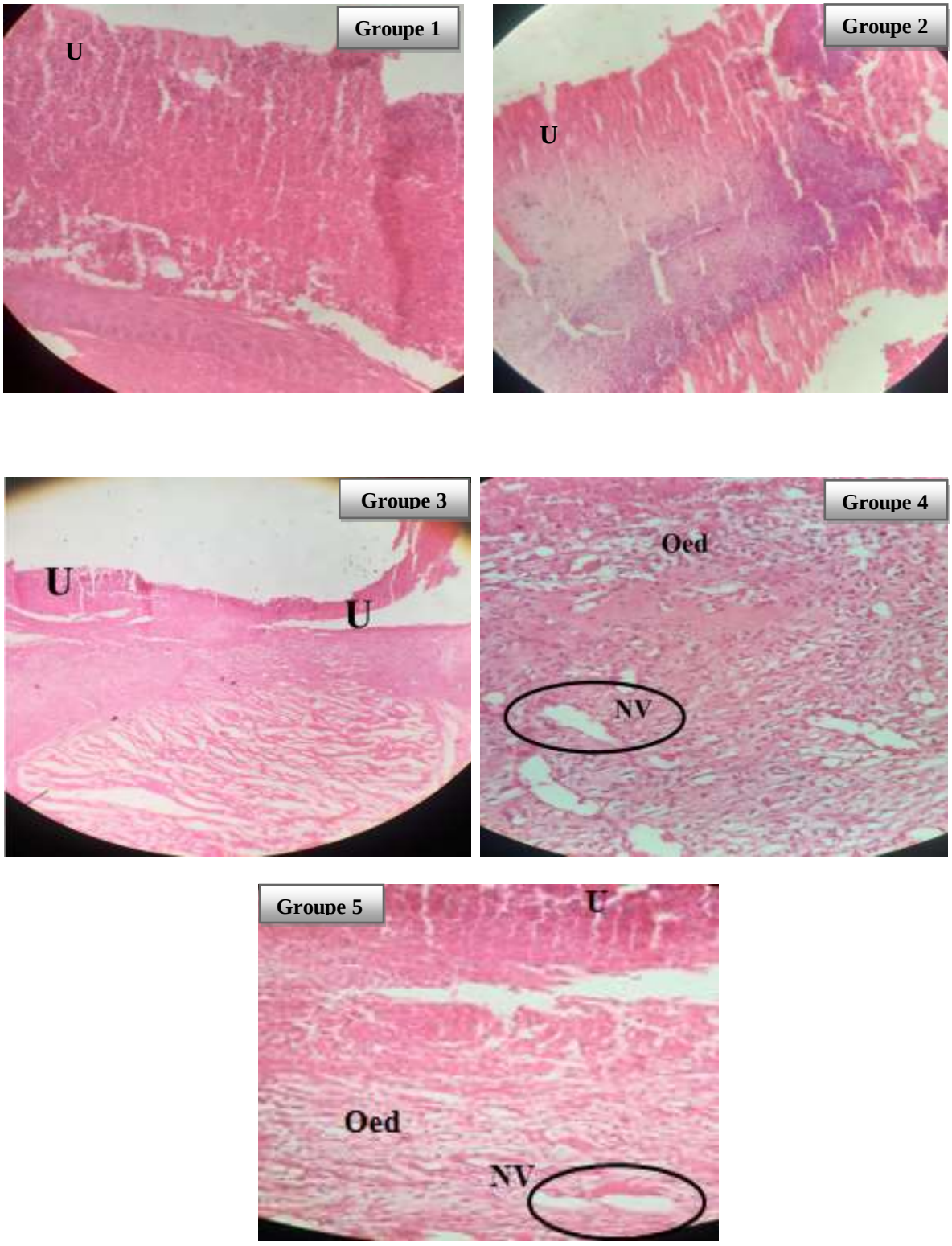


Figure 139 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 4éme jour
U : Ulcération, **Oed** : Œdème, **NV** : Néovaisseaux

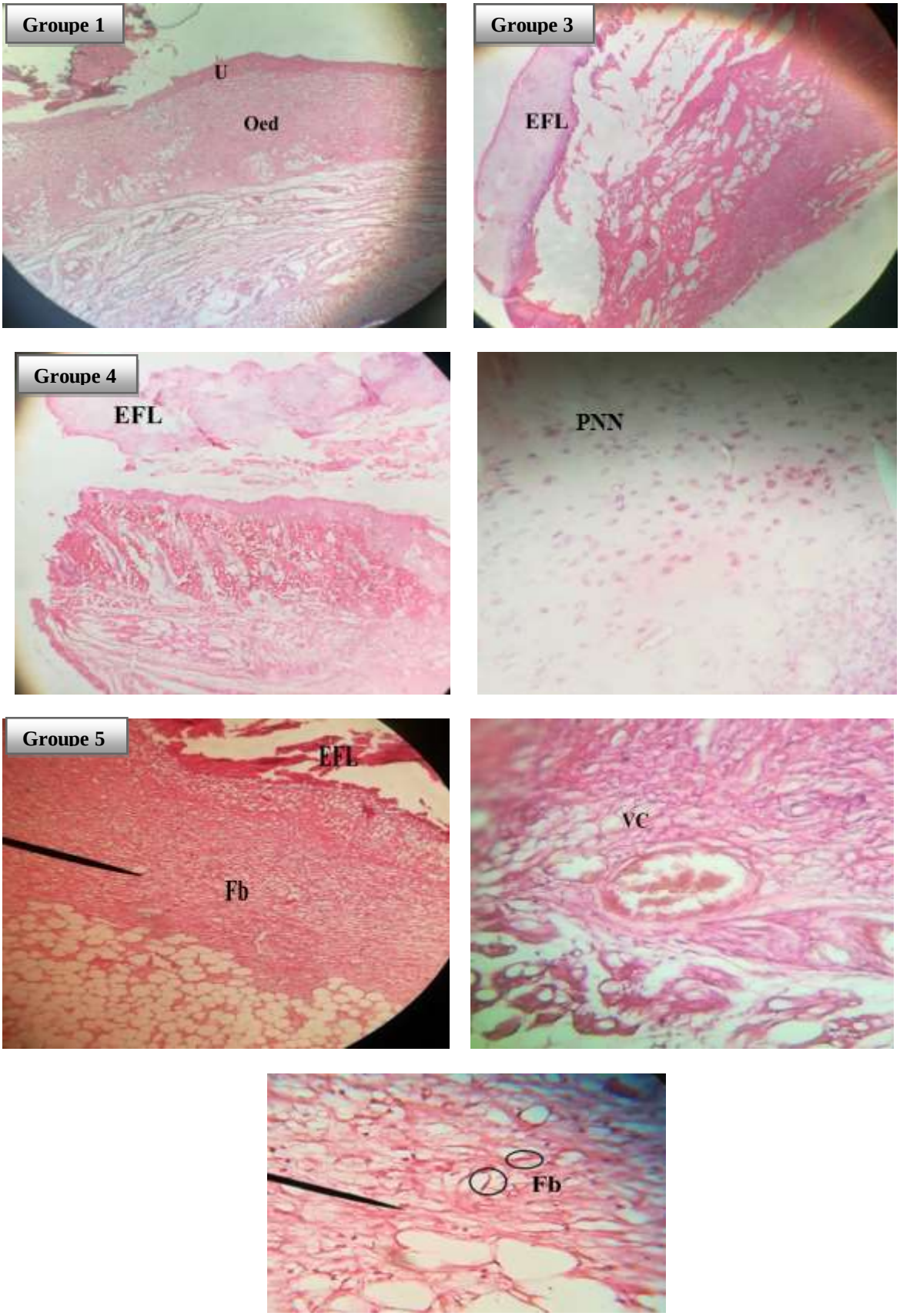


Figure 140 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 8 éme jour.
U : ulcération, **EFL** : Enduit fibrinoleucocytaire, **Oed** : Œdème, **Fb** : Fibroblaste

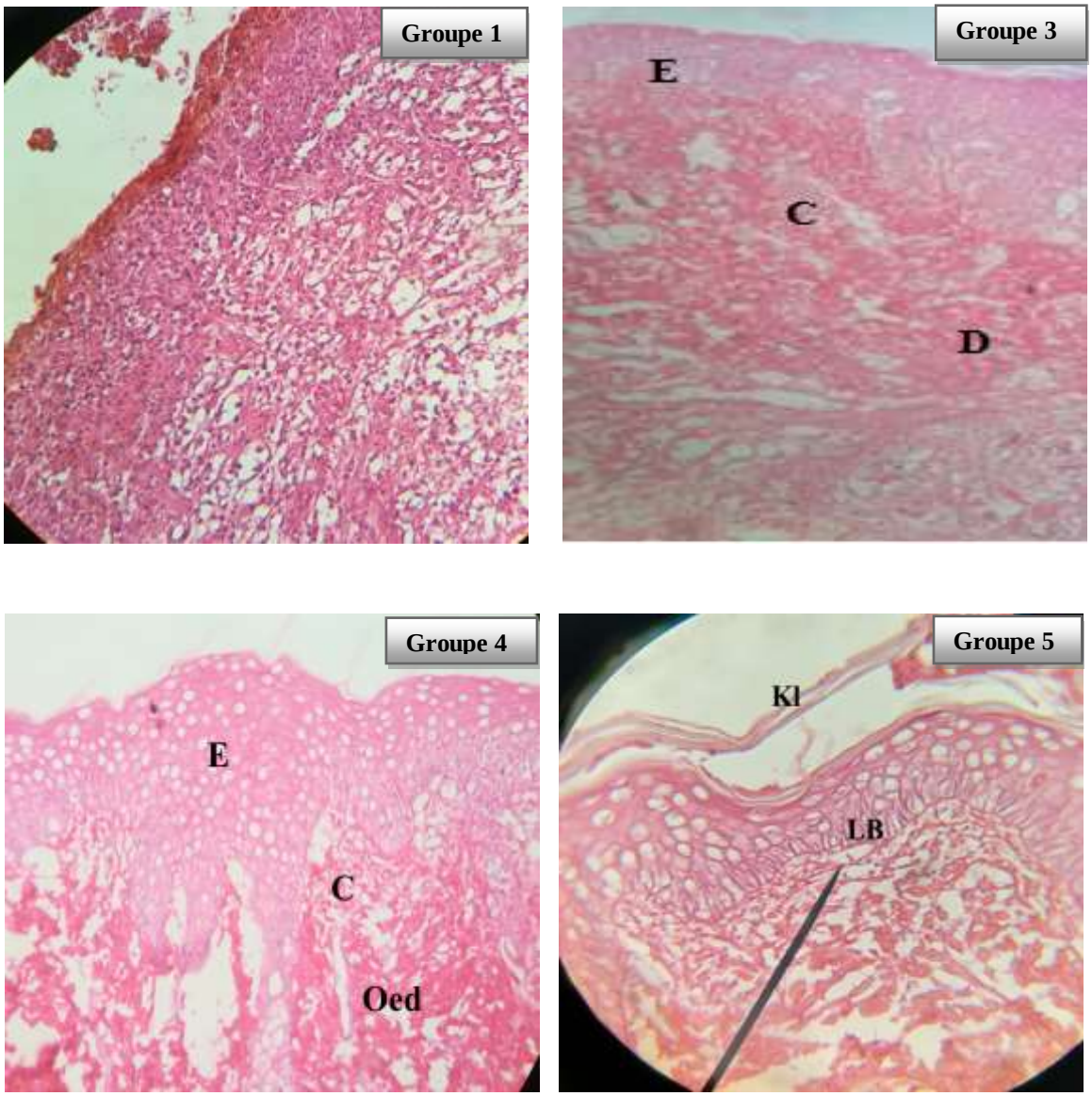


Figure 141 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 12 éme jour
E : Epiderme, **C** : Collagéne, **D** : Derme, **Oed :** Œdème, **LB :** Lame basale, **Kl** : Kératine lamellaire

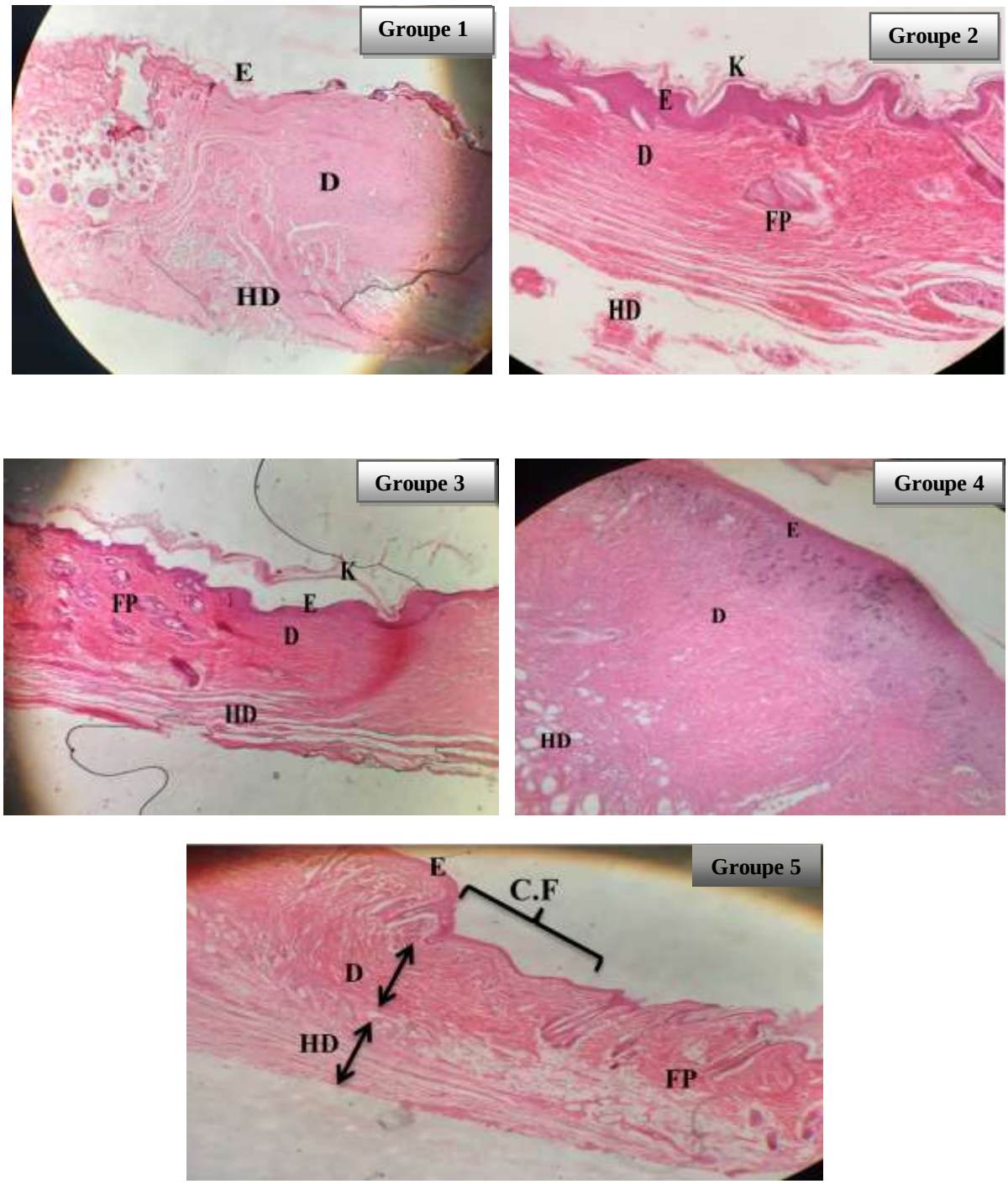


Figure 142 : Evolution de la cicatrisation dans les différents groupes au 20^{éme} jour
E : Epiderme, **CF** : Cicatrice fibreuse, **D** : Derme, **HD** : Hypoderme, **FP** : Follicule pileux, **K :** Kératine

4.2.2.8 Paramètres biochimiques

4.2.2.8.1 Dosage de l'hydroxyproline

La teneur en hydroxyproline a été calculée selon l'équation Y = 0,00282 X + 0,12064, R^2 = 0,998, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en µg / 100 mg de tissus de granulation (Figure 143). Les teneurs en hydroxyproline dans les groupes 3, 4, 5 sont significativement plus élevées que celle obtenue chez le groupe 2 (P <0,05) (Tableau 59).
A l'inverse, aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes 1 et 2.
Le taux le plus élevé en hydroxyproline à été obtenu dans le groupe 4 traité par PbF 5%.

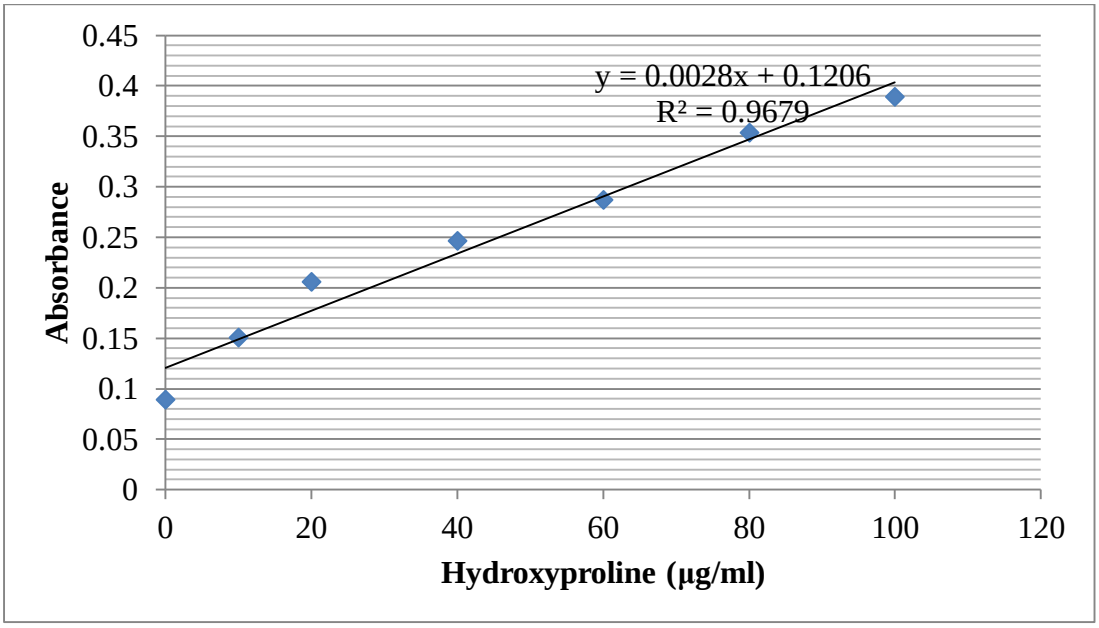


Figure 143 : Courbe d'étalonnage de l'hydroxyproline (557 nm)

Une concentration élevée en hydroxyproline constitue le résultat de la prolifération et de la migration des fibroblastes et du dépôt de collagène. Elle nous renseigne alors sur la teneur en collagène qui joue un rôle essentiel dans la cicatrisation et donc une période d'épithélialisation plus courte **(Murthy et al., 2013, Bhat et al., 2016)**. Les résultats obtenus du dosage de l'hydroxyproline ne font que confirmer les résultats de l'analyse histopathologique.

Tableau 59 : Effet de l'application locale de la pommade de *P.bovei* sur la teneur en hydroxyproline

Groupe	**Teneur en hydroxyproline** (µg/100 mg de tissus)
1	14,09 ± 0,11**
2	14,02 ± 0,57
3	20,21 ± 0,45*
4	22,95 ± 1,42*
5	20,65 ± 0,70*

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD
Test t Student, vs groupe 2 ,*P<0, 05, **P>0, 05

4.2.2.8.2 Dosage du CRP

Une concentration élevée du CRP témoigne d'une inflammation. Au 8 éme jour post-excision, les concentrations du CRP obtenues sont significativement basses dans les groupes 3, 4 et 5 ($p < 0,05$). Les valeurs du CRP obtenues dans les deux groupes 3 et 5 reflètent un effet anti-inflammatoire modéré. Aucune réduction significative de ce marqueur inflammatoire n'a été observée dans les deux groupes 1 et 2 ($p > 0,05$) (Tableau 60).

Tableau 60: Résultats du dosage du CRP

Jour	**Groupe 1 (mg/dl)**	**Groupe 2 (mg/dl)**	**Groupe 3 (mg/dl)**	**Groupe 4 (mg/dl)**	**Groupe 5 (mg/dl)**
J8	0,184±0,011**	0,174±0,010	0,154±0,006*	0,109±0,007*	0,148±0,004*

Test t Student, vs groupe 2,*P < 0, 05, **P > 0, 05

Lors d'une étude réalisée sur un extrait de *Prosopis cineraria* L (Fabaceae) à 5%, une diminution modérée du CRP a été observée au 16 éme jour après excision de la peau chez des rats Wistar par rapport au groupe témoin **(Yadav et al., 2018).**

On pourrait ainsi attribuer les résultats obtenus à la présence des molécules anti-inflammatoires présentes dans la plante en particulier les composés phénoliques qui possèdent une puissante capacité à agir comme des agents antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériens ce qui induit une guérison plus rapide **(Pepe et al., 2015, Ammar et al., 2015).**

Les principes actifs issus des plantes pourraient induire la cicatrisation de différents manières, ils ont la possibilité de stimuler la prolifération des fibroblastes, d'induire la prolifération et la différenciation des kératinocytes, d'augmenter la formation de collagène, d'avoir des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires. Dans la plupart des cas, pour qu'un agent provenant de plantes médicinales soit classé comme une molécule

cicatrisante , il doit posséder au moins deux des propriétés suscitées **(Agyare et al., 2016)**. Les composés phénoliques par exemple ont la capacité d'agir à différents stades de cicatrisation des plaies, soit en stimulant la synthèse du collagène, la prolifération cellulaire et l'angiogénése **(Ağar et al., 2015).**

A la lumière de ces résultats, l'activité cicatrisante des feuilles *P.bovei* est probablement due à l'activité synergique des composés isolés. Les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de métabolites isolés tels que le composé **2 (Viljoen et al., 2012)**, le composé **4 (Zhang et al., 2004),** le composé **10 (Zhang et al., 2017a)** et surtout le composé **6 (Li et al., 2018, Khullar et al., 2019)**, ne font que renforcer notre hypothése. Il a été rapporté que les propriétés cicatrisantes et antioxydantes sont fortement liés **(Süntar et al., 2012).**

4.2.3 Activité antioxydante des composés isolés et approche de la relation structure-activité

L'activité antioxydante du verbascoside était supérieure à celle de tous les composés testés avec la plus faible valeur IC50 qui est égale à 43,16 ± 0,96 µg /ml (Tableau 61), suivie par le forsythoside (54,76 ± 0.72 µg /ml), l'alangilignoside C (78,19± 1,58 µg / ml), le leucosceptoside (113,02 ± 2,31 µg/ml) et l'angoroside C (150,38± 2,46 µg /ml) (Figure 144).

A partir de l'analyse des résultats de l'activité antioxydante des quatre phényléthanoïdes testés, on peut conclure que :

- Les phényléthanoïdes glucosides avec leurs parties aglycones (3,4-dihydroxyphényléthanoïdes) et leurs acides phénoliques ont présenté une forte inhibition dose-dépendante des radiaux libres.
- Les composés phénoliques dont les fonctions hydroxyles sont fixés en C-3, C-4 ont montré une forte activité antioxydante
- La substitution de l'acide caféique par l'acide ferulique a montré une diminution significative de l'activité antioxydante (IC 50 Forsythoside B < IC50 Leucosceptoside B), ce résultat rejoint celui d'une étude réalisée en 2019, où l'importance de l'acide caféique dans l'activité cytotoxique des phényléthanoïdes a été démontrée **(Kutluay et al., 2019).**
- L'angoroside C avec son 4- méthoxyphényléthanoïde et ses trois sucres a exprimé l'activité la plus faible parmi les phényléthanoïdes testés.
- L'activité de piégeage du radical libre DPPH diminue lors de l'augmentation du nombre de glycosylation dans la série des composés comme cela a été observé pour le forsythoside B en le comparant au verbascoside.

Les iridoïdes quant à eux (schanzhiside méthyle ester et lamalbide) n'ont pas exprimé une bonne activité de piégeage des radicaux libres ceci est probablement due à leur faible capacité de don d'hydrogène. Le lamalbide a exprimé une activité plus importante que schanzhiside méthyle ester, ceci concorde avec les données de la littérature car lorsqu' une fonction hydroxyle est introduite dans une structure d'iridoide, l'activité topique augmente. D'un autre coté, pour que les iridoides puissent être plus actifs, il faut qu'ils soient hydrolysés **(Recio, 1994, Viljoen et al., 2012).**

C'est le cas par exemple de l'harpagide et l'harpagoside qui n'ont présenté aucune inhibition des enzymes COX-1 et COX-2, ni libération de TNF-α ni production de NO. Après hydrolyse avec la β-glucosidase, l'harpagide est transformé en H-harpagide tandis que l'harpagoside est transformé en H-harpagide et acide cinnamique. Le produit hydrolysé, le H-harpagide, a significativement inhibé l'activité COX-2 et il a été noté que la structure chimique de ce composé était similaire à la PGE2 et à d'autres inhibiteurs sélectifs de la COX-2 tels que le célécoxib **(Viljoen et al., 2012).**

D'un autre coté, mis à part la glycosylation certaines conditions doivent se réunir pour qu'un iridoide soit plus actif :

- L'insaturation en C7-C8
- La conversion de la fonction acide – COOH en son analogue - COOMe
- La substitution hydroxyle en C-5
- La substitution méthyle du carboxyle C-11.

A propos des lignanes, l'alangilignoside **C** s'est révélé plus actif que le syringaresinol diglucopyranoside. Ces dernières années, des études sur les dérivés du benzofurane ont montré qu'ils ont une bonne activité anti-inflammatoire **(Miao et al., 2019).**

Parmi les dérivés les plus connus du benzofurane : l'amiodarone (antiarythmique). Les lignanes méritent alors d'être de plus en plus étudiés pour le développement de nouveaux médicaments.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante présentés dans cette étude ont indiqué que les phényléthanoïdes et les lignanes pourraient avoir des applications thérapeutiques potentielles en tant que futur agent antioxydant. Cependant, ces résultats ont été obtenus *in vitro,* leurs propriétés pharmacologiques doivent encore être explorées *in vivo.*

L'activité antioxydante, nous a permis d'établir des relations structures / activités Cependant, d'autres essais avec un plus grand nombre de métabolites secondaires seront utiles pour bien comprendre leurs mécanismes d'actions.

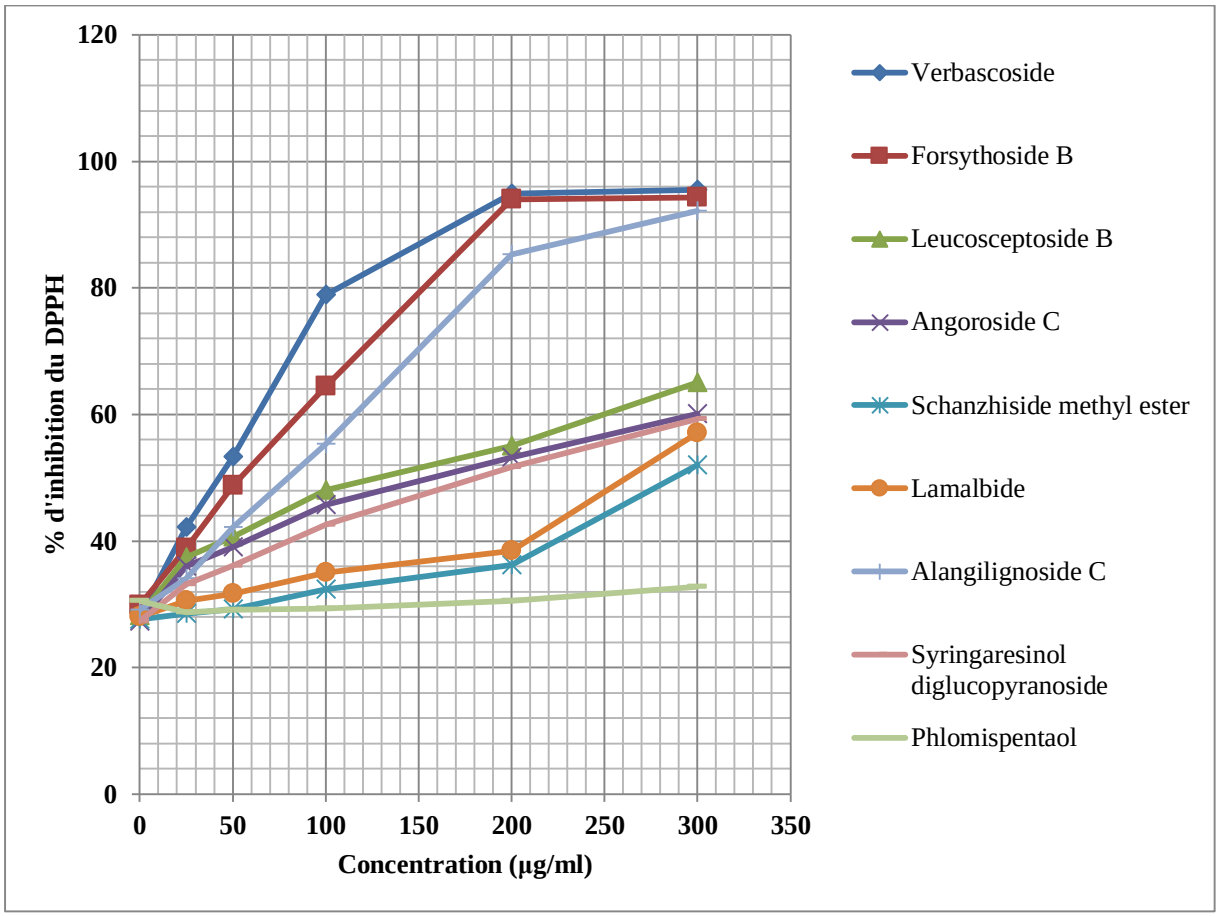


Figure 144 : Activité antioxydante des composés isolés

Tableau 61 : Concentrations efficaces (IC50) des composés isolés

Classe	Composé	IC 50 (µg/ml)
Phenylethanoides	Verbascoside	43,16 ± 0,96
	Forsythoside B	54,76 ± 0,72
	Leucosceptoside B	113,02 ± 2,31
	AngorosideC	150,38± 2,46
Iridoides	Lamalbide	260,85±3,06
	Schanzhiside méthyle ester	285,96 ±2,18
Lignanes	Alangilignoside C	78,19± 1,58
	Syringaresinol diglucopyranoside	175,32± 3,26
Phényle glucoside	Phlomispentaol	> 300

Les valeurs représentent la moyenne de trois (3) mesures ± SD

Conclusion et perspectives

La cicatrisation est un phénomène naturel qui peut manquer de qualité, de rapidité de guérison et d'esthétique. Le recours à la médecine traditionnelle dans le traitement des plaies est connu depuis des décennies, cependant très peu d'espèces ont été soumises à une évaluation de leurs activités biologiques pour étudier leurs propriétés cicatrisantes et déterminer l'innocuité et l'efficacité des remèdes traditionnels.

Ce travail présente les travaux ethnobotaniques, phytochimiques et biologiques réalisés sur le *Phlomis bovei* de Noé (Lamiaceae), une espèce algérienne endémique à l'Afrique du nord. Le choix de la plante a été fondé suite à une étude ethnobotanique transversale descriptive menée pour la première fois dans seize (16) villes algérienne touchant l'Ouest, le centre, l'est et le sud du pays, réalisée auprès de 1850 habitants et 190 herboristes où on a pu recenser 96 plantes utilisées en médecine traditionnelle pour leur effet cicatrisant.

Il s'agit également de la première étude phytochimique qui a porté aussi bien sur les feuilles que sur les racines du *P.bovei*. L'étude a permis d'isoler seize (16) composés naturels qui font parties de plusieurs classes phytochimiques ce qui a permis d'enrichir notre travail : **trois iridoides** (lamalbide , schanzhiside méthyle ester, sésamoside), **deux mégastigmanes** (phlomuroside , vajicoside) **, cinq phenylethanoides** (verbascoside , leucosceptoside B , forsythoside B , diacétyl martynoside , angoroside C), **quatre lignanes** (liriodendrine, 7,8 dihydrodehydrodiconiferyl alcool-9´-*O*-β-D glucopyranoside, alangilignoside C , lyonirésinol 9´-β -D- glucopyranoside), **un nortriterpene** (phlomispentaol), et **un phenyl glucoside** (léonuriside A).

La purification et l'isolement ont été réalisés à l'aide des différentes méthodes chromatographiques (chromatographie liquide sous vide VLC, chromatographie d'exclusion moléculaire, chromatographie liquide à moyenne pression MPLC). Leur caractérisation a été réalisée à l'aide de techniques spectroscopiques : RMN-1D (^{1}H et ^{13}C), 2D (COSY, ROESY, HSQC, HMBC, TOCSY, ROESY) et la spectrométrie de masse.

La présente étude nous a permis de confirmer l'utilisation traditionnelle du *P.bovei*. L'extrait hydroalcoolique des feuilles a eu une activité cicatrisante remarquable chez les rats Wistar selon le modèle de plaie par excision qui a montré une amélioration significative estimée par une réduction de la surface de cicatrisation d'environ 5 % par rapport au groupe témoin et un gain de cinq jours dans le temps d'épithélialisation avec une cicatrice de meilleure qualité sur le plan histologique, cela serait dû à l'effet combiné des phytoconstituants présents, en particulier les phényléthanoïdes.

L’activité antioxydante, nous a permis d’établir des relations structure / activité Cependant, d'autres expériences avec un plus grand nombre de métabolites secondaires seront utiles pour la compréhension de leurs mécanismes d’actions.

D’un point de vue phytochimique, au vu des résultats plus prometteurs, il serait intéressant de lancer une recherche plus poussée sur les autres espèces de *Phlomis* (*P.Caballeroi* Pau et *P .Crinita* Cav espèces rares localisées dans l’ouest algérien) ou d’autres plantes endémiques de la famille des Lamiaceae dans le but de contribuer à l’enrichissement des bases de données des iridoides, des phényléthanoïdes, des lignanes et des mégastigmane selon la même méthodologie abordée dans ce travail de thèse.

Il est certain qu’il reste encore beaucoup à apprendre des pratiques traditionnelles. Il est alors intéressent d’isoler les principes actifs et d’évaluer leurs activités biologiques qui seraient probablement les nouveaux médicaments de demain et pourraient défier les thérapeutiques d’aujourd’hui.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbasi, A., Khan, M., Ahmad, M., Qureshi, R., Arshad, M., Jahan, S., Zafar, M.,Sultana, S. 2010. Ethnobotanical study of wound healing herbs among the tribal communities in Northern Himalaya ranges district Abbottabad, Pakistan. Pak. J. Bot. 42, 3747–3753.

Abdulla, M., Phipps, M. E. 2006. Wound healing activities of Plantago major leaf extract in rats. Int. J. Trop. Med. 1, 33–35.

Aboutabl, E. A., Meselhy, M. R., Afifi, M. S. 2002. Iridoids from *Phlomis aurea* Decne growing in Egypt. Pharmazie 57, 646–647.

Abu-Al-Basal, M. A. 2010. Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full-thickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. J. Ethnopharmacol. 131, 443–450.

Adetutu, A., Morgan, W. A.,Corcoran, O. 2011. Ethnopharmacological survey and *in vitro* evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. J. Ethnopharmacol. 137, 50–56.

Afolayan, A. J., Grierson, D. S.,Mbeng, W. O. 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the management of skin disorders among the Xhosa communities of the amathole district, Eastern Cape, South Africa. J. Ethnopharmacol. 153, 220–232.

Ağar, O. T., Dıkmen, M., Öztürk, N., Yilmaz, M., Temel, H., Turkmenoglu, F. 2015. Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea* L. Species Growing in Turkey. Molecules 20, 17976–18000.

Agyare, C., Kisseih, E., Boakye, Y., Dapaah, S., Agana, T., Bekoe, S. 2016. Medicinal Plants and Natural Products with Demonstrated Wound Healing Properties.483–531

Ahmad, I., Ahmad, N., Wang, F. 2009. Antioxidant phenylpropanoid glycosides from *Buddleja davidii*. J. Enzym. Inhib. Med. Ch. 4, 993–997.

Ahmad, M., Ansari, M., Alam, A., Khan, T. 2013. Oral dose of citrus peel extracts promotes wound repair in diabetic rats. Pak. J. Biol. Sci. 16, 1086–1094.

Ahmadi, R., Ghasemi, N. 2015. Effect of local application and injection of *Cinnamomum zeylanicum* on burn wound improvement in diabetic and non-diabetic male rats. Med.Sci. 25, 27–32.

Akdemir, Z., Kahraman, Ç., Tatlı, I. I., Küpeli Akkol, E., Süntar, I., Keles, H. 2011. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory, antinociceptive and wound healer glycosides from the flowers of *Verbascum mucronatum* Lam. J. Ethnopharmacol. 136, 436–443.

Akgun, S. G., Aydemir, S., Ozkan, N., Yuksel, M., Sardas, S. 2017. Evaluation of the wound healing potential of *Aloe vera*-based extract of *Nerium oleander*. North. Clin. Istanb. 4, 205–212.

Al-Deen, A., Ahmed, S., Alhaidari, A., Al-Kaf, A., Al-Hadi, F., Mahbashi, A., Al, A. 2019. Phytochemical screening and thin layer chromatographic of *Prunus dulcis* (almond) medicinal plant leaves used in folk medicine for treatment of wounds and burns in hufash district al mahweet governorate-Yemen. Univers. J. Pharm. Res. 4, 19–23.

Al-Qudah, M., Obeidat, S., Saleh, A., El-Oqlah, A., Al-Masaeed, E., Al-Jaber, H., Orabi, S. 2018. Volatile components analysis, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Phlomis* species collected from Jordan. J. Essent. Oil-Bear. Plants 21, 583–599.

Al-Qura'n, S. 2009. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. J. Ethnopharmacol. 123, 45–50.

Al-Snafi, A. 2016. The medical importance of *Cicer arietinum* -A review. IOSR J. Pharm. 6, 29–40.

Alalwan, T. A., Alkhuzai, J. A., Jameel, Z., Mandeel, Q. A. 2019. Quantitative ethnobotanical study of some medicinal plants used by herbalists in Bahrain. J. Herb. Med. 100278.

Algieri, F., Zorrilla, P., Nogales, A., Garrido-Mesa, N., Bañuelos, O., Gonzalez-Tejero, M. R., Casares-Porcel, M., Mesa, J., Zarzuelo, A., Utrilla, M., Rodriguez-Cabezas, M., Galvez, J. 2013. Intestinal anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Phlomis purpurea* L. and *Phlomis lychnitis* L. in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. J. Ethnopharmacol. 146, 750–759

Ali, S., Khan, M. R., Batool, R., Maryam, S., Majid, M. 2019. Wound healing potential of oil extracted from *Parrotiopsis jacquemontiana* (Decne) Rehder. J. Ethnopharmacol.236, 354–365.

Alipieva, K., Jensen, S., Franzyk, H., Handjieva, N., Evstatieva, L. 2000. Iridoid glucosides from *Phlomis tuberosa* L. and *Phlomis herba-ventis* L. Z. Naturforsch., C, J. Biosci.54c, 137–140.

Alipieva, K., Korkina, L., Erdogan Orhan, I., Georgiev, M. 2014. Verbascoside – A review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance. Biotechnol. Adv. 32, 1065–1076.

Amezouar, F., Badri, W., Hsaine, M., Bourhim, N., Fougrach, H. 2013. Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. Pathol. Biol. 61, 254–258.

Ammar, I., Bardaa, S., Mzid, M., Sahnoun, Z., Rebaii, T., Attia, H., Ennouri, M. 2015. Antioxidant, antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. Int. J. Biol. Macromol. 81, 483–490.

Amor, I., Neffati, A., Ben Sghaier, M., Bhouri, W., Boubaker, J., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Ben Ammar, R., Cheraief, I., Hammami, M., Ghoul, M., Chekir-Ghedira, L. 2008. Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. *mauritanica* Munby. J. Am. Oil. Chem. Soc. 85, 845–849.

Amor, I., Skandrani, I., Boubaker, J., Ben Sghaier, M., Neffati, A., Bhouri, W., Bouhlel, I., Chouchane, N., Kilani, S., Guedon, E., Ghoul, M., Chekir-Ghedira, L. 2009. Investigation of biological activity of polar extracts isolated from *Phlomis crinita* Cav ssp. *mauritanica* Munby. Drug. Chem. Toxicol. 32, 38–46.

Amponsah, D., Nagai, D.H. 2014. Determination of the presence of flavonoids in the leaves, seeds and branches of the matured plant, *Indigofera arrecta*. Int. J. Sci. Res. 3,1–3.

Amri, B., Martino, E., Vitulo, F., Corana, F., Kaâb, L. B.-B., Rui, M., Rossi, D., Mori, M., Rossi, S., Collina, S. 2017. *Marrubium vulgare* L. Leave extract: Phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. Molecules 22, 1851.

Andersen, M. L., Santos, E. H. R., Seabra, M. D. L. V., Da Silva, A. A. B., Tufik, S. 2004. Evaluation of acute and chronic treatments with *Harpagophytum procumbens* on Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. J. Ethnopharmacol. 91, 325–330.

Andreadou, I., Sigala, F., Iliodromitis, E. K., Papaefthimiou, M., Sigalas, C., Aligiannis, N., Savvari, P., Gorgoulis, V., Papalabros, E., Kremastinos, D. T. 2007. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. J. Mol. Cell. Cardiol. 42, 549–558.

Anne, E., Osbourn; Virginia, Lanzotti 2009. Plant-derived natural products. Synthesis, function, and application, Springer, New York, NY .

Anonyme, 2006. Rapport national sur l'etat des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques.

Ansari, R., Arami, R., Sahinfard, N., Namjou, A., Shirzad, H., Rahimi, M., Rafieian, M. 2011. Effect of *Teucrium polium* and *Boswellia serrata* extracts on cotaneus burn wound healing in Balb/C mice. J. Shahrekord. Univ. Med. Sci. 12, 49–53.

Ansell, D., Campbell, L., Thomason, H., Brass, A., Hardman, M. 2014. A statistical analysis of murine incisional and excisional acute wound models. Wound Repair Regen. 22, 281–287

APG IV 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Bot. J. Linn. Soc. 181**,** 1–20

Araújo, L. U., Reis, P., Barbosa, L. C. O., Saúde-Guimarães, D., Grabe-Guimarães, A., Mosqueira, V., Carneiro, C., Silva-Barcellos, N. 2012. *In vivo* wound healing effects of *Symphytum officinale* L. leaves extract in different topical formulations. Pharmazie 67, 355–360.

Arndt, K.A., Thioly-Bensoussan, D. 2007. Traitement des cicatrices, Avancées en dermatologie cosmétique. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, 136 p.

Atalay, Z., Celep, F., Bara, F., Doğan, M. 2016. Systematic significance of anatomy and trichome morphology in Lamium (Lamioideae; Lamiaceae). Flora - Morphology, Distribution, Functional ecology of plants 225**,** 60–75.

Bader, A., Tuccinardi, T., Granchi, C., Martinelli, A., Macchia, M., Minutolo, F., De Tommasi, N., Braca, A. 2015. Phenylpropanoids and flavonoids from *Phlomis kurdica* as inhibitors of human lactate dehydrogenase. Phytochemistry 116, 262–268.

Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., Maggi, F. 2017. Variation in chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of wild populations of *Phlomis olivieri*. Chem. Biodivers. 14, e1600444.

Bao, X.-H., Wang, Q.-H., Bao, B.-Y.-Q.-E., Han, J.-J., Ao, W.-L.-J. 2017. Antibacterial and antioxidant activities of megastigmane glycosides from *Hosta plantaginea*. Chem. Nat. Compd. 53, 614–617.

Bekro, Y.-A. 2018. Phytochemical screening and antioxidant profile of leave decoctions of five wild edible plants from Côte d'Ivoire. J.Mater.Sci. 9.724–727.

Bektas, N., Şenel, B., Yenilmez, E., Özatik, O., Arslan, R. 2019. Evaluation of wound healing effect of chitosan-based gel formulation containing vitexin. Saudi Pharm. J. 87–94.

Belfekih, F., El Yahyaoui, O., Chleh, M., Ould Abdellah, L., Sammama, A., Aicha, L., Bengueddour, R. 2017. Phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. Am. J. Innov. Res. Appl. Sci. 237–245.

Belkhodja, H. 2017. Study of chemical properties and skin tolerance activity of essential oils extracted from *Rosmarinus officinalis* and *Populusalba*. Int. J. Mol. Biol. 2.108–111.

Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Ibis Press, Paris. 764p.

Ben Djemaa, F. G., Bellassoued, K., Zouari, S., El Feki, A., Ammar, E. 2016. Antioxidant and wound healing activity of Lavandula aspic L. ointment. J. Tissue Viability 25, 193–200.

Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A. A., Elouissi, M., Khaldi, A., Hamimed, A. 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). J. Ethnopharmacol. 175, 626–637.

Bergman, I., Loxley, R. 1963. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. Anal. Chem. 35, 1961–1965.

Bhat, P., Hegde, S., Upadhya, V., Hegde, G., Habbu, P., Mulgund, G. 2016. Evaluation of wound healing property of *Caesalpinia mimosoides* Lam. J. Ethnopharmacol. 193. 712–724.

Biswas, T. K., Pandit, S., Chakrabarti, S., Banerjee, S., Poyra, N., Seal, T. 2017. Evaluation of *Cynodon dactylon* for wound healing activity. J. Ethnopharmacol. 197, 128–137.

Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G. 2013. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. J.Ethnopharmacol. 148, 395–402.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. In: Technique et Documentation Lavoisier, Paris.

Bruneton, J. 2016. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. In: Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 1504 p.

Calis, I., Basaran, A., Saracoglu, I., Sticher, O., Rüedi, P. 1990. Phlinosides A, B And C, Three phenylpropanoid glycosides from *Phlomis linearis.* Phytochemistry 29, 1253–1257.

Çalış, İ., Güvenç, A., Armağan, M., Koyuncu, M., Gotfredsen, C. H., Jensen, S. R. 2007. Iridoid glucosides from *Eremostachys moluccelloides* Bunge. Helv. Chim. Acta 90, 1461–1466.

Calis, I., Kirmizibekmez, H. 2004. Glycosides from *Phlomis lunariifolia*. Phytochemistry 65, 2619–2625.

Calis, I., Kirmizibekmez, H., Beutler, J., Dönmez, A., Yalçin, F., Kilic, E., Özalp, M., Rüedi, P., Tasdemir, D. 2005a. Secondary metabolites of *Phlomis viscosa* and their biological activities. Turk. J. Chem. 29, 71–81.

Calis, I., Kirmizibekmez, H., Ersoz, T., Dönmez, A., Gotfredsen, C., Jensen, S. 2005b. Iridoid glucosides from Turkish *Phlomis tuberosa*. Z. Naturforsch. B 60b, 1295–1298.

Chingwaru, C., Bagar, T., Maroyi, A., Kapewangolo, P. T., Chingwaru, W. 2019. Wound healing potential of selected Southern African medicinal plants: A review. Int. J. Herb. Med. 17–18, 100263.

Choi, H., Cho, J., Jin, Q., Woo, E.-R., Lee, D. G. 2012. Antifungal property of dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9′-O-β-d-glucoside and its pore-forming action in plasma membrane of *Candida albicans*. BBA-Biomembranes 1818, 1648–1655.

Choi, J., Park, Y. G., Yun, M.-S., Seol, J.-W. 2018. Effect of herbal mixture composed of *Alchemilla vulgaris* and *Mimosa* on wound healing process. Biomed. Pharmacother. 106, 326–332.

Cohen Y. 1992. Evaluation of skin tolerance *in vivo*, practical analysis of drugs. International medical editions. MOCLP, 7.

Couladis, M., Tanimanidis, A., Tzakou, O., Chinou, I., Harvala, C. 2000. Essential oil of *Phlomis lanata* growing in Greece: Chemical composition and antimicrobial activity. Planta Med. 66, 670–672.

Crowley, T. E. 2020. Chapter 7 - Nuclear magnetic resonance spectroscopy. *In:* Crowley, T. E. (ed.) Purification and characterization of secondary metabolites. Academic Press.

Cummings, A. & Olsen, M. 2011. Mechanism of action of stinging nettles. Wild Environ. Med. 22, 136–139.

Dahmani, M. M., Laoufi, R., Slama, O., Arab, K. 2018. Gas chromatography coupled to mass spectrometry characterization, anti-inflammatory effect, wound-healing potential, and hair growth-promoting activity of Algerian *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae). Indian J. Pharmacol. 50, 123.

Dakiche, H., Khali, M., Boutoumi, H. 2017. Phytochemical characterization and *in vivo* anti-inflammatory and wound-healing activities of *Argania spinosa* (L.) skeels seed oil. Rec. Nat. Prod. 11, 171–184.

Danielea. C, D. S., Firuzia. O, Sekfalib. N, Sasoa. L, Mazzantia. G 2005. *Atractylis gummifera* L. poisoning: an ethnopharmacological review. J. Ethnopharmacol. 97. 175–181.

De Moura Sperotto, N. D., Steffens, L., Veríssimo, R. M., Henn, J. G., Péres, V. F., Vianna, P., Chies, J. A. B., Roehe, A., Saffi, J., Moura, D. J. 2018. Wound healing and anti-inflammatory activities induced by a *Plantago australis* hydroethanolic extract standardized in verbascoside. J. Ethnopharmacol. 225, 178–188.

De Wet, H., Nciki, S., Van Vuuren, S. F. 2013. Medicinal plants used for the treatment of various skin disorders by a rural community in northern Maputaland, South Africa. J. Ethnobiol. Ethnomed. 9, 51.

Delazar, A., Sabzevari, A., Mojarrab, M., Nazemiyeh, H., Esnaashari, S., Nahar, L., Razavi, S. M., Sarker, S. D. 2008. Free-radical-scavenging principles from *Phlomis caucasica*. J. Nat. Med. 62, 464–466.

Delazar, A., Sarker, S. D., Nahar, L., Jalali, S. B., Modaresi, M., Hamedeyazdan, S., Babaei, H., Javadzadeh, Y., Asnaashari, S., Bamdad Moghadam, S. 2013. Rhizomes of *Eremostachys laciniata*: Isolation and structure elucidation of chemical constituents and a clinical trial on inflammatory diseases. Adv. Pharm. Bull. 3, 385–393.

Dellai, A., Ben Mansour, H., Limem, I., Bouhlel, I., Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Chekir-Ghedira, L. 2009. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in different extracts from the flowers of *Phlomis crinita* Cav. ssp *Mauritanica* munby from the center of Tunisia. Drug. Chem. Toxicol. 32, 283–292.

Demirci, F., Guven, K., Dadandi, M. Y., Baser, K. H. C. 2008. Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. Food Control 19, 1159–1164.

Denecker, G., Ovaere, P., Vandenabeele, P., Declercq, W. 2008. Caspase-14 reveals its secrets. J. Cell. Biol. 180, 451–458.

Díaz-Lanza, A. M., Abad, M., Fernández, L., Silván, A., Santos, J., Bermejo, P. 2004. Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia: In vitro* anti-inflammatory activity. Life Sci. 74, 2515–2526.

Dimitrova, P., Kostadinova, E., Milanova, V., Alipieva, K., Georgiev, M., Ivanovska, N. 2012. Antiinflammatory properties of extracts and compounds isolated from *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb. Phytother. Res. 26, 1681–1687.

Dinda, B. 2019. Pharmacology and applications of naturally occurring iridoids (English Edition). Springer, 296 p.

Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., Devkota, H. P. 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. S. Afr. J. Bot, 120, 261-267.

Dobignard, A., Chatelain, C. 2012. Index synonymique de la flore d'Afrique du nord 4: 1–431. Éditions des conservatoires et jardin botaniques, Genève.

Draize, J. H., Woodard, G., Calvery, H. O. 1944. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 82, 377–390.

Dréno, B. 2009. Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Ann. Dermatol. Vener. 136, S247–S251.

Duletic, S., Knežević-Vukčević, J., Marin, P., Simić, D., Vukojevic, J., Janackovic, P., Vajs, V. 2000. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). Phytother. Res. 14, 267–271.

Dung, H. V., Bach, N. V., Trung, T. N., Nhiem, N. X., Tai, B. H., Kiem, P. V., Park, S., Lee, T. H., Kim, S. Y., Kim, S. H. 2016. Megastigmane glycosides from *Docynia indica* and their anti-inflammatory activities. Helv. Chim. Acta 99, 681–686.

Dupont, F., Guignard, J-L . 2012. Botanique ; les familles de plantes (15e édition*)*, Masson, 284 p.

Dursun, N., Liman, N., Özyazgan, İ., Güneş, I., Saraymen, R. 2003. Role of *Thymus* oil in burn wound healing. J. Burn Care Res. 24, 395–399.

Edibamode Ei, P. C., Wifa Bs., Paul Jn 2018. The effect of ethanolic seed extract of solanum lycopersicum on wound healing. . Eur. J. Pharm. Med. Res. 5(1): 356 –361.

Eigtved, P., Jensen, S., Nielsen, B., Åkerström, S., Taticchi, A.,Mannervik, B. 1974. A novel iridoid glucoside isolated from *Lamium album* L. Acta Chem. Scand. B 28, 85–91.
El-Negoumy, S. I., Abdalla, M. F., Saleh, N. A. M. 1986. Flavonoids of *Phlomis aurea* and *P. floccosa*. Phytochemistry 25, 772–774.
El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Lyoussi, B., Taleb, M., Abdellaoui, A. 2019. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of extracts from Teucrium polium growing wild in Morocco. Mater.,Today 13, 777–783.
Ergene Oz, B., Saltan Iscan, G., Kupeli Akkol, E., Suntar, I., Keles, H., Bahadir Acikara, O. 2017. Wound healing and anti-inflammatory activity of some *Ononis* taxons. Biomed. Pharmacother. 91, 1096–1105.
Ersoz, T., Alipieva, K. I., Yalcin, F. N., Akbay, P., Handjieva, N., Donmez, A. A., Popov, S., Calis, I. 2003. Physocalycoside, a new phenylethanoid glycoside from *Phlomis physocalyx* Hub.-Mor. Z. Naturforsch., C, J. Biosci. 58, 471–476.
Ersöz, T., Ivancheva, S., Akbay, P., Sticher, O., Calis, I. 2001. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis tuberos*a L. Z. Naturforsch., C, J. Biosci. 56, 695–698.
Ersoz , T., Saracoglu , I., Harput, S., Calis , I. 2002. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Phlomis grandiflor*a var. *fimbrilligera* and *Phlomis fruticosa.* Turk. J. Chem. 26, 171–178.
Ersöz, T., Saracoglu, I., Tasdemir, D., Kirmizibekmez, H., Dönmez, A., Ireland, C., Calis, I. 2002. Neolignan glucosides from *Phlomis Chimerae* Boiss. Z. Naturforsch., C, J. Biosci. 57, 221–225.
Ersoz, T., Schuhly, W., Popov, S., Handjieva, N., Sticher, O., Calis, I. 2001. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis longifolia* var. *longifolia.* Nat. Prod. Lett. 15, 345–351.
Fakhim, S. A., Babaei, H., Nia, A., Ashrafi, J. 2015. Wound healing effect of topical grape seed extract (*Vitis vinifera*) on rat palatal mucosa. Int. J. Curr. Res. 3, 477–489.
Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. C. R. Biol. 331, 372–379.
Farahpour, M. 2017. Topical application of *Salvia officinalis* hydroethanolic leaf extract improves wound healing process. Indian J. Exp. Biol. 55, 98–106.
Fauvel, M. T., Taoubi, K., Gleye, J., Fouraste, I. 1993. Phenylpropanoid Glycosides from *Avicennia marina*. Planta Med. 59, 387.
FDA 2001. Guidance for industry: chronic cutaneous ulcer and burn wounds-developing products for treatment. Wound Repair Regen. 9, 258–268.
Fettach, S., Mrabti, H. N., Sayah, K., Bouyahya, A., Salhi, N., Cherrah, Y., El Abbes, F. M. 2019. Phenolic content, acute toxicity of *Ajuga iva* extracts and assessment of their antioxidant and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects. S. Afr. J. Bot. 125, 381–385.
Fikru, A., Makonnen, E., Eguale, T., Debella, A., Abie Mekonnen, G. 2012. Evaluation of *in vivo* wound healing activity of methanol extract of *Achyranthes aspera* L. J. Ethnopharmacol. 143, 469–474.
Firdous, S., Ahmad, H., Hussain, M., Shah, M. 2015. Pollen morphology of *Ajuga* L., *Lamium* L. and *Phlomis* L. (Lamiaceae) from district abbottabad Pakistan. Pak. J. Bot. 47, 269–274.
Fox, L. T., Mazumder, A., Dwivedi, A., Gerber, M., Du Plessis, J.,Hamman, J. H. 2017. *In vitro* wound healing and cytotoxic activity of the gel and whole-leaf materials from selected *Aloe* species. J. Ethnopharmacol. 200, 1–7.

Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., Bianco, A. 2019a. Chapter 4 - Phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceutics of Lamiaceae. *In:* ATTA UR, R. (ed.) Studies in Natural Products Chemistry. Elsevier.

Frezza, C., Venditti, A., Toniolo, C., Vita, D. D., Serafini, I., Ciccòla, A., Franceschin, M., Ventrone, A., Tomassini, L., Foddai, S., Guiso, M., Nicoletti, M., Bianco, A., Serafini, M. 2019b. *Pedicularis* L. Genus: Systematics, Botany, phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and other. Plants, 8, 306.

Friedman, J., Yaniv, Z., Dafni, A., Palewitch, D. 1986. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among bedouins in the Negev desert, Israel. J. Ethnopharmacol. 16, 275–287.

Fu, G., Pang, H., Wong, Y. H. 2008. Naturally occurring phenylethanoid glycosides: potential leads for new therapeutics. Curr. Med. Chem. 15, 2592–2613.

Fujiwara, S., Masuda, S. 1962. Nuclear resonance magnetic. J. Syn. Org. Chem. Jpn. 20, 884–896.

Fronza, M., Heinzmann, B., Hamburger, M., Laufer, S., Merfort, I. 2009. Determination of the wound healing effect of *Calendula* extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. J. Ethnopharmacol.126, 463–467.

Gadbin, C. 1979. L'intéret de l'acétolyse en mélissopalynologie. Apidologie 10, (1), 23–28.

Gantwerker, E. A., Hom, D. B. 2011. Skin: Histology and physiology of wound healing. facial plast. Surg. Cl. 19, 441–453.

Gao, Y.-L., Lin, R.-C., Wang, G.-L., Zhao, H.-R., Gao, Y., Ciren, B. 2007. Studies on the chemical constituents of *Phlomis younghusbandii* . Zhong Yao Cai 30, 1239–1242.

Geneves, L. 1962. Manipulations de botanique, Paris, Dunod, 441 p.

Georgiev, M., Alipieva, K., Orhan, I., Abrashev, R., Denev, P., Angelova, M. 2011. Antioxidant and cholinesterases inhibitory activities of *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb. and its phenylethanoid glycosides. Food Chem.128, 100–105.

Georgiev, M., Pastore, S., Lulli, D., Alipieva, K., Kostyuk, V., Potapovitch, A., Panetta, M., Korkina, L. 2012. *Verbascum xanthophoeniceum*-derived phenylethanoid glycosides are potent inhibitors of inflammatory chemokines in dormant and interferon-gamma-stimulated human keratinocytes. J. Ethnopharmacol. 144.

Ghasemi Pirbalouti, A., Azizi, S., Koohpayeh, A., Hamedi, B. 2010. Wound healing activity of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* in alloxan-induced diabetic rats. Acta Pol. Pharm. 67, 511–516.

Ghlissi, Z., Kallel, R., Sila, A., Harrabi, B., Atheymen, R., Zeghal, K., Bougatef, A., Sahnoun, Z. 2016. *Globularia alypum* methanolic extract improves burn wound healing process and inflammation in rats and possesses antibacterial and antioxidant activities. Biomed. Pharmacother. 84, 1488–1495.

Ghule, B. V., Yeole, P. G. 2012. *In vitro* and *in vivo* immunomodulatory activities of iridoids fraction from *Barleria prionitis* Linn. J. Ethnopharmacol. 141, 424–431.

Gibitz-Eisath, N., Eichberger, M., Gruber, R., Sturm, S., Stuppner, H. 2018. Development and validation of a rapid ultra-high performance liquid chromatography diode array detector method for *Verbena officinalis* L. Pharm. Biomed. Anal. 160, 160–167.

Gilca, M., Tiplica, G. S., Salavastru, C. M. 2018. Traditional and ethnobotanical dermatology practices in Romania and other Eastern European countries. Clin. Dermatol. 36, 338–352.

Gontijo, D. C., Gontijo, P. C., Brandão, G. C., Diaz, M. A. N., De Oliveira, A. B., Fietto, L. G., Leite, J. P. V. 2019. Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. J. Ethnopharmacol. 236, 114–123.

Gonzalez, A., Fortuna, T., Andrade, Z., Medrado, A. 2016. Wound healing - A literature review. An. Bras. Dermatol. 91, 614–620.

Govaerts, R. 2003. World Checklist of Selected Plant Families Database in ACCESS: 1-216203. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. http://wcsp.science.kew.org/qsearch.do. Consulté le 04/04/2020.

Gramma, L., Marques, F., Vittorazzi, C., Andrade, T., Frade, M., Andrade, T., Endringer, D., Scherer, R., Fronza, M. 2016. *Struthanthus vulgaris* ointment prevents an over expression of inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. J. Ethnopharmacol. 190, 319–327.

Gu, H., Gu, X., Xu, Q., Kang, W. 2014. Antioxidant activity *in vitro* and hepatoprotective effect of *Phlomis Maximowiczii in vivo*. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. 11, 46–52.

Guo, S., Gao, L., Cheng, D. 2001. Iridoids from *Phlomis umbrosa*. Pharmazie 56, 178-80.

Gupta, A., Tripathi, T., Paswan, S., Agarwal, A., Rao, C., Sidhu, O. 2018. Phytochemical investigation, antioxidant and wound healing activities of *Citrullus colocynthis* (bitter apple). Asian Pac. J. Trop. Biomed. 8, 418–424.

Gutierrez, R., Vargas Solis, R., Baez, E., Martínez-Martínez, F. 2006. Effect on capillary permeability in rabbits of iridoids from *Buddleia scordioides*. Phytother. Res. 20, 542–545.

Güzel, S., Özay, Y., Kumaş, M., Uzun, C., Özkorkmaz, E. G., Yıldırım, Z., Ülger, M., Güler, G., Çelik, A., Çamlıca, Y., Kahraman, A. 2019. Wound healing properties, antimicrobial and antioxidant activities of *Salvia kronenburgii* Rech. f. and *Salvia euphratica* Montbret, Aucher & Rech. f. var. *euphratica* on excision and incision wound models in diabetic rats. Biomed. Pharmacother. 111, 1260–1276.

Hajiaghaalipour, F., Kanthimathi, M. S., Abdulla, M. A., Sanusi, J. 2013. The effect of *Camellia sinensis* on wound healing potential in an animal model. Evid. Based Complementary Altern. Med. 1–7.

Hammiche V, Merad R, Azzouz M. 2013 - Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour Méditerranéen. Ed. Springer-Verlag. 447p.

Hang, N., Ky, P., Minh, C., Cuong, N., Thao, N., Kiem, P. 2008. Study on the chemical constituents of *Premna Integrifolia* L. Nat. Prod. Commun. 3, 1449–1452.

Hangan, T., Carabineanu, A., Badiu, D., Crainiceanu, Z., Cumpanas, A., Bardan, R., Sorina, C., Oancea, A., Navolan, D. 2016. The benefits of olive oil compounds in healing burned skin lesions. Rev. de Chim. 67, 1793–1796.

Harput, U., Saracoglu, I., Calis, I., Dönmez, A., Nagatsu, A. 2004. Secondary metabolites from *Phlomis kotschyana*. Turk. J. Chem. 28, 767–774.

Hartati, Irma, S., Iwan, D., Nur, R., Alimuddin, A. 2019. Wound healing effects of *Piper nigrum* L. and *Coffea canephora* in Rats. Mater. Sci. Forum 967, 9–14.

Hashemnia, M., Nikousefat, Z., Mohammadalipour, A., Zangeneh, M., Zangeneh, A. 2019. Wound healing activity of *Pimpinella anisum* methanolic extract in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Wound Care 28, S26–S36.

He, J., Hu, X.-P., Zeng, Y., Li, Y., Wu, H.-Q., Qiu, R.-Z., Ma, W.-J., Li, T., Li, C.-Y., He, Z.-D. 2011. Advanced research on acteoside for chemistry and bioactivities. J. Asian Nat. Prod. Res. 13, 449–464.

Heilmann, J., Calis, I., Kirmizibekmez, H., Schühly, W., Harput, U., Sticher, O. 2001. Radical scavenger activity of phenylethanoid glycosides in fmlp stimulated human polymorphonuclear leukocytes: structure-activity relationships. Planta Med. 66, 746–748.

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., Romani, A. 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. Food Chem. 99, 464–469.

Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O. 1998. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. Soc. Sci. Med. 47, 1859–1871.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, sources,utilisations et potentiel dans la lutte contre le stressoxydatif. Phytotherapie 2, 3–6.

Hikino, H., Endo, K., Takahashi, K., Abe, T. 1981. Structure of forsythoside A, a antibacterial principle of *Forsythia suspensa* leaves. Heterocycles 16, 1311–1314.

Hilaly, J. E., Lyoussi, B. 2002. Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 80, 109–113.

Hinz, B., Phan, S., Thannickal, V., Prunotto, M., Alexis, D., Varga, J., De Wever, O., Mareel, M., Gabbiani, G. 2012. Recent developments in myofibroblast biology paradigms for connective tissue remodeling. Am. J. Pathol. 180, 1340–1355.

Ho, C., Lam, K. C., Chan, M., Cheung, R., Law, L., Lit, L., Ng, K. F., Suen, M., Tai, H. L. 2003. Electrospray ionisation mass spectrometry: Principles and clinical applications. Clin. Biochem. Rev. 24, 3–12.

Hu, X.-P., Shao, M.-M., Song, X., Wu, X.-L., Qi, L., Zheng, K., Fan, L., Liao, C.-H., Li, C.-Y., He, J., Hu, Y.-J., Wu, H.-Q., Li, S.-H., Zhang, J., Zhang, F.-X., He, Z.-D. 2016. Anti-influenza virus effects of crude phenylethanoid glycosides isolated from *Ligustrum purpurascens* via inducing endogenous interferon-γ. J. Ethnopharmacol. 179, 128–136.

Huber-Morath, A. 1982. Phlomis L.In:Davis, P. H. (Ed.), Flora of Turkey and East Aegean islands. Edinburg University Press.Edinburgh, pp.102–126.

Hukkeri, V. I., Karadi, R., Akki, K. S., Savadi, R. V., Jaiprakash, B., Kuppast, I. J., Patil, M. B. 2002. Wound healing property of *Eucalyptus globulus* L. leaf extract. Indian Drugs 39, 481–483.

Iclal, S . 2002. Phenolic Constituents from *Phlomis lycia*. Turk. J. Chem. 26, 133–142.

Inngjerdingen, K., Nergard, C. S., Diallo, D., Mounkoro, P. P., Paulsen, B. S. 2004. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. J. Ethnopharmacol. 92, 233–244.

Iqbal, E., Salim, K. A., Lim, L. B. L. 2015. Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. J. King Saud Univ. Sci. 27, 224–232.

Ismailoglu, U., Saracoglu, I., Harput, U., Sahin-Erdemli, I. 2002. Effects of phenylpropanoid and iridoid glycosides on free radical-induced impairmen of endothelium-dependent relaxation in rat aortic rings. J. Ethnopharmacol. 79, 193–197.

Jaiswal, S. K., Dubey, M. K., Das, S., Rao, C. V. 2014. Gastroprotective effect of the iridoid fraction from *Barleria prionitis* leaves on experimentally-induced gastric ulceration. Chin. J. Nat. Med. 12, 738–744.

Jena, J., Gupta, A. 2012. *Ricinus communis* Linn: A phytopharmacological review. Int. J. Curr. Pharm. Res. 4, 25–29.

Jian, W., Yunling, G., Yilong, C., Yiwen, C., Yi, Z., Li, X., Zheng, P. 2018. *Lamiophlomis rotata* identification via its 2 barcode and quality evaluation by UPLC-QTOF-MS couple with multivariate analyses. Molecules 23, 3289.

Jivad, N., Bahmani, M., Asadi-Samani, M. 2016. A review of the most important medicinal plants effective on wound healing on ethnobotany evidence of Iran. Der Pharm. Lett. 8, 353–357.

Jokic, S., Velić, D., Bilic, M., Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomasa, S. 2010. Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans. Czech J. Food Sci. 28, 206–212.

Joshi, A., Bhobe, M., Sattarkar, A. 2013. Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. J. Chem. Pharm. Res. 5, 80–87.

Joshi, A., Joshi, V. K., Pandey, D., Hemalatha, S. 2016. Systematic investigation of ethanolic extract from *Leea macrophylla*: Implications in wound healing. J. Ethnopharmacol. 191, 95–106.

Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., Bugarski, B. M. 2017. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. Sep. Purif. Technol. 179, 369–380.

Kaboli, H., Haghighat, S. 2017. Evaluation of *Borrago* topical effects on wound healing of cutting wounds in mice. S. S. U. Med. Sci. 25, 311–321.

Kabouche, A., Kabouche, Z., Seguin, E., Tillequin, F., Bruneau, C. 2005. A phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Cav.) (Lamiaceae). Biochem. Syst. Ecol. 33,813–816.

Kamel, M. S., Mohamed, K. M., Hassanean, H. A., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K. 2000. Iridoid and megastigmane glycosides from *Phlomis aurea*. *Phytochemistry 5*5, 353–357.

Kamkaen, N., Phuntuwate, W., Samee, W., Treesak, C. 2007. The investigation of the rabbit and human skin irritation of herbal anti-wrinkle cream. Thai Pharm. Health Sci. 2, 20–25.

Kanchanapoom, T., Kasai, R., Yamasaki, K. 2001. Iridoid glucosides from *Barleria lupulina.* Phytochemistry 58, 337–341.

Kanchanapoom, T., Otsuka, H., Ruchirawat, S. 2007. Megastigmane glucosides from *Equisetum debile* and *E. diffusum*. Chem. Pharm. Bull. 55, 1277–1280.

Kang, U., Ryu, S., Lee, D., Seo, E. K. 2018. Chemical constituents of the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala*. Chem. Nat. Compd. 54, 1–4.

Kasai, R., Katagiri, M., Ohtani, K., Yamasaki, K., Chong-Ren, Y., Tanaka, O. 1994. Iridoid glycosides from *Phlomis younghusbandii* roots. Phytochemistry 36, 967–970.

Keskin, I., Gunal, M., Ayla, S., Kolbaşı, B., Sayin Sakul, A., Kilic, U., Gok, O., Koroglu, K., Özbek, H. 2017. Effects of *Foeniculum vulgare* essential oil compounds, fenchone and limonene, on experimental wound healing. Biotech. Histochem. 92, 1–9.

Khalil, E., Afifi, F., Al-Hussaini, M. 2007. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (Mus musculus). J. Ethnopharmacol. 109, 104–112.

Khan, A.-U., Ullah, R., Khan, A., Mustafa, M. R., Hussain, J., Murugan, D. D., Hadi, A. H. B. A. 2012. Vasodilator effect of *Phlomis bracteosa* constituents is mediated through dual endothelium-dependent and endothelium-independent pathways. Clin Exp Hypertens. 34, 132–139.

Khavkin, J., Ellis, D. 2011. Aging Skin: Histology, physiology, and pathology. Facial Plast. Surg. Clin. North Am. 19, 229–234.

Khitri, W., Lachgueur, N., Tasfaout, A., Lardjam, A., Khalfa, A. 2016. Plantes antilithiasiques utilisées en médecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie: Approche ethnobotanique et phytochimique. Revue d'ethnoécologie, 9.

Khorasani, G., Hosseinimehr, S. J., Zamani, P., Ghasemi, M., Ahmadi, A. 2009. The effect of Saffron (*Crocus Sativus*) extract for healing of second-degree burn wounds in rats. Keio J. Med. 57, 190–195.

Khullar, M., Sharma, A., Wani, A., Sharma, N., Sharma, N., Chandan, B. K., Kumar, A., Ahmed, Z. 2019. Acteoside ameliorates inflammatory responses through NFkB pathway in alcohol induced hepatic damage. Int. Immunopharmacol. 69, 109–117.

Kikuchi, M., Onoguchi, R., Yaoita, Y. 2009. Three new monoterpene glucosides from *Lamium amplexicaule*. Helv. Chim. Acta 92, 2063–2070.

Kim, K. H., Beemelmanns, C., Clardy, J., Cao, S. 2015. A new antibacterial octaketide and cytotoxic phenylethanoid glycosides from *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Bioorg. Med. Chem. Lett. 25, 2834-2836.

Kimpouni, V., Mamboueni, J. C., Tsoungould, F. G. M., Mikoko, E. N. 2019. Ethnobotanical and phytotherapeutic study from Kouni community of the sub-prefecture of Kayes (Bouenza – Congo). Heliyon, 5, e02007.

Kirmizibekmez, H., Ariburnu, E., Masullo, M., Festa, M., Capasso, A., Yesilada, E., PiacentE, S. 2012. Iridoid, phenylethanoid and flavonoid glycosides from *Sideritis trojana*. Fitoterapia 83, 130–136.

Kirmizibekmez, H., Calis, I., Perozzo, R., Brun, R., Donmez, A. A., Linden, A., Ruedi, P., Tasdemir, D. 2004. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogaleata* against parasitic protozoa and plasmodial enoyl-ACP Reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis. Planta Med. 70, 711–717.

Kırmızıbekmez, H., Piacente, S., Pizza, C., Dönmez, A., Calis, I. 2004. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis nissolii* and *P. capitata*. Z. Naturforsch., B J. Chem. Sci.59, 609–613.

Korkina, L. 2007. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand) 53, 15–25.

Kp, U., Au, E., Ai, P. 2018. Investigating the wound healing potential of *Costus afer* (Ker Gawl) stem juice on cutaneous wounds of albino rats. J. Stem Cells Regen. Med. 3, 1–8.

Ktari, N., Trabelsi, I., Bardaa, S., Triki, M., Bkhairia, I., Ben Slama-Ben Salem, R., Nasri, M., Ben Salah, R. 2017. Antioxidant and hemolytic activities, and effects in rat cutaneous wound healing of a novel polysaccharide from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. Int. J. Biol. Macromol. 95, 625–634.

Kumar, B., Vijayakumar, M., Govindarajan, R., Pushpangadan, P. 2007. Ethnopharmacological approaches to wound healing-exploring medicinal plants of India. J. Ethnopharmacol. 114, 103–113.

Kuo, L.-M., Zhang, L.-J., Huang, H.-T., Lin, Z.-H., Liaw, C.-C., Cheng, H.-L., Lee, K.-H., Morris-Natschke, S., Kuo, Y.-H.,Ho, H.-O. 2013. Antioxidant lignans and chromone glycosides from *Eurya japonica*. J. Nat. Prod. 76, 580–587.

Kupeli, E., Tatli, I. I., Akdemir, Z. S.,Yesilada, E. 2007. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of *Verbascum lasianthum* Boiss. ex Bentham. J. Ethnopharmacol. 110, 444–450.

Kutluay, V. M., Ishiuchi, K. I., Makino, T.,Saracoglu, I. 2019. Cytotoxic phenylethanoid glycosides from *Digitalis davisiana* Heywood: Evaluation of structure activity relationships and chemotaxonomical significance of isolated compounds. Fitoterapia 135, 90–98.

Lacaille-Dubois, M., Galle, K.,Wagner, H. 1996. Secoiridoids and xanthones from *Gentianella nitida*. Planta Med. 62, 365–368.

Le, D. A. T., Nguyen, D., Bingtian, Z., Min, B., Song, S.,Woo, M. 2019. Quantitation and radical scavenging activity evaluation of iridoids and phenylethanoids from the roots of *Phlomis umbrosa* (Turcz.) using DPPH free radical and DPPH-HPLC methods, and their cytotoxicity. Nat. Prod. Sci. 25, 122–129.

Lee, D., Jung, H. J., Woo, E.-R. 2005. Antimicrobial property of (+)-lyoniresinol-3α-O-β-D-glucopyranoside isolated from the root bark of *Lycium chinense* Miller against human pathogenic microorganisms. Arch.Pharm. Res. 28, 1031–1036.

Li, C., Zhang, C.Z. 2000. Study the chemical constituents from *Phlomis mongolica* Turcz. . Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 25, 35-37.

Li, H.-X., Xiao, C.-J., Wang, M., Cui, S.-J., Li, H.-F., Wang, K.-L., Dong, X., Jiang, B. 2019. Four new phenylethanoid glycosides from *Ternstroemia gymnanthera* and their analgesic activities. Phytochem. Lett. 34, 25–29.

Li, Q., Liu, Y., Han, L., Liu, J., Liu, W., Feng, F., Zhang, J., Xie, N. 2016. Chemical constituents and quality control of two *Dracocephalum* species based on high-performance liquid chromatographic fingerprints coupled with tandem mass spectrometry and chemometrics. J. Sep. Sci. 39, 4071–4085.

Li, Q., Yang, S., Yang, S., Xin, F., Wang, M. 2015. Anti-inflammatory activity of phlomisoside F isolated from *Phlomis younghusbandii* Mukerjee. Int. Immunopharmacol. 28, 724–730.

Li, X.-H., Li, X.-H., Yao, Q., Lu, L.-H., Li, Y.-B., Wu, D.-S., Fu, D.-H., Mei, S.-X., Cui, T., Wang, J.-K., Zhu, Z.-Y. 2017a. Phlolosides A–F, iridoids from *Phlomis likiangensis* with a carbonate ester substituent. Tetrahedron Lett. 58, 3112–3118.

Li, X.-H., Lu, L.-H., Li, X.-H., Li, Y.-B., Zha, Y.-F., Fu, D.-H., Mei, S.-X., Cui, T., Wang, J.-K., Zhu, Z.-Y. 2017b. Iridoid glycosides from *Phlomis likiangensis* with free-radical scavenging activity. Tetrahedron Lett. 58,4395–4399.

Li, Y., Yu, H., Jin, Y., Li, M., Qu, C. 2018. Verbascoside alleviates atopic dermatitis-like symptoms in mice via its potent anti-inflammatory effect. Int. Arch. Allergy Immunol. 175, 220–230.

Li, Y. M., Han, Z., Jiang, S., Jiang, Y., De, Y., Zhu, D. Y. 2001. Fast repairing of oxidized OH radical adducts of dAMP and dGMP by phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. Acta Pharmacol. Sin. 21, 1125–1128.

Liang, N., Kitts, D. 2014. Antioxidant property of *Coffee* Components: Assessment of methods that define mechanisms of action. Molecules 19, 19180–19208.

Limem-Ben Amor, I., Boubaker, J., Ben Sgaier, M., Skandrani, I., Bhouri, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlel, I., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L. 2009. Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. J. Ethnopharmacol. 183–202.

Lin, L. C., Chiou, W. F., Chou, C. J. 2004. Phenylpropanoid glycosides from Orobanche Caerulescens. Planta Med.70, 50–53.

Liolios, C., Laouer, H., Boulaacheb, N., Gortzi, O., Chinou, I. 2007a. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Algerian *Phlomis bovei* De Noé subsp. bovei. Molecules 12, 772–781.

Liu, H., Zheng, Y.-F., Li, C.-Y., Zheng, Y.-Y., Wang, D.-Q., Wu, Z., Huang, L., Wang, Y.-G., Li, P.-B., Peng, W., Su, W.-W. 2015. Discovery of anti-inflammatory ingredients in chinese herbal formula kouyanqing granule based on relevance analysis between chemical characters and biological effects. Sci. Rep. 5, 18080.

Liu, P., Takaishi, Y., Duan, H. 2007. Two new phenylethanoid glycosides from the roots of *Phlomis umbrosa*. Chin. Chem. Lett. 18, 155–157.

Liu, P., Zhang, W., Takaishi, Y., Duan, H.-Q. 2008. Novel nortriterpenes from *Phlomis umbrosa*. Chem. Pharm. Bull. 56, 951–955.

Liu, Y.-H., Wu, P.-Q., Hu, Q.-L., Pei, Y.-J., Qi, F.-M., Zhang, Z.-X., Fei, D.-Q. 2017. Cytotoxic and antibacterial activities of iridoids and sesquiterpenoids from *Valeriana jatamansi*. Fitoterapia 123, 73–78.

Lopez, V., Jäger, A., Akerreta, S., Cavero, R., Calvo, M. 2010. Antioxidant activity and phenylpropanoids of *Phlomis lychnitis* L.: A Traditional herbal tea. Plant Food Hum. Nutr. 65, 179–185.

Lordani, T., Lara, C., Ferreira, F., Monich, M., Silva, C., Lordani, C., Bueno, F., Teixeira, J., Lonardoni, M. 2018. Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: A systematic review. Mediators Inflamm. 2018, 1–12.

Lulekal, E., Tesfaye, S., Christos, S. G., Dires, K., Zenebe, T., Zegeye, N., Feleke, G., Kassahun, A., Shiferaw, Y., Mekonnen, A. 2019. Phytochemical analysis and evaluation of skin irritation, acute and sub-acute toxicity of *Cymbopogon citratus* essential oil in mice and rabbits. Toxicol. Rep. 6, 1289-1294.

Majdalawieh, A., Massri, M., Nasrallah, G. 2017. A comprehensive review on the anti-cancer properties and mechanisms of action of sesamin, a lignan in sesame seeds (*Sesamum indicum*). Eur. J. Pharmacol. 815.

María, R., Shirley, M., Xavier, C., Jaime, S., David, V., Rosa, S., Jodie, D. 2018. Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. J. King Saud Univ. Sci.30, 500–505.

Marin, P., Veitch, N., Grayer, R., Kite, G., Soković, M., Janackovic, P. 2007. Flavonoids from *Phlomis fruticosa* (Lamiaceae) growing in Montenegro. Biochem. Syst. Ecol. 35, 462–466.

Martin, F., Hay, A.-E., Corno, L., Gupta, M., Hostettmann, K. 2007. Iridoid glycosides from the stems of *Pithecoctenium crucigerum* (Bignoniaceae). Phytochemistry 68, 1307–1311.

Mateus, M. C., Neves, D., Dacunha, B., Laczko, E., Maia, C., Teixeira, R., Cravador, A. 2016. Structure, anti-phytophthora and anti-tumor activities of a nortriterpenoid from the rhizome of *Phlomis purpurea* (Lamiaceae). Phytochemistry 131, 158–164.

Mehrabani, D., Farjam, M., Geramizadeh, B., Tanideh, N., Amini, M., Panjehshahin, M. R. 2015. The healing effect of curcumin on burn wounds in rat. World J. Plast. Surg. 4, 29–35.

Mejd, S., Trabelsi, N., Dahmeni, A., Benzekri, R., Bouslama, L., Hajlaoui, B., Al-Sieni, A., Papetti, A. 2016. Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Allium roseum* var. *odoratissimum* (Desf.) Coss extracts. Ind. Crops Prod. 89, 533–542.

Mélissopoulos, A., Levacher, C., Robert, L., Ballotti, R., 2012. La peau: structure et physiologie, 2nd edition. Lavoisier, Paris France, 265 p.

Menet, M.-C. 2011. Principes de la spectrométrie de masse. Rev. Francoph. des Lab, 41–53.

Miao, Y.-H., Hu, Y.-H., Yang, J., Liu, T., Sun, J., Wang, X.-J. 2019. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. RSC Adv. 9, 27510–27540.

Min, H., Zhao, Z. M., Guo, W. Y., Yang, D. P., Cheng, J. L. 2012. Chemical constituents of *Clerodendrum lindleyi* and their free radical scavenging activities. Zhong Cao Yao 43, 1050–1056.

Mirastschijski, U., Schnabel, R., Claes, J., Schneider, W., Ågren, M.S., Haaksma, C., Tomasek, J.J., 2010. Matrix metalloproteinase inhibition delays wound healing and blocks latent transforming growth factor-β1 promoted myofibroblast formation and function. Wound Repair Regen.18, 223–234.

Modarresi, M., Farahpour, M., Baradaran, B. 2018. Topical application of *Mentha piperita* essential oil accelerates wound healing in infected mice model. Inflammopharmacology, 27, 531–537.

Modarressi, A., Pietramaggiori, G., Godbout, C., Vigato, E., Pittet, B., Hinz, B. 2010. Hypoxia impairs skin myofibroblast differentiation and function. J. Invest.Dermatol. 130, 2818-2827.

Moghbel, A., Ghalambor, A., Allipanah, S. 2007. Wound Healing and Toxicity Evaluation of *Aloe vera* Cream on Outpatients with Second Degree Burns. Iran. J. Pharm. Sci. 3, 157–160.

Mohamed, A. 2017. Antibacterial and wound healing potential of ethanolic extract of *Zingiber Officinale* in albino rats. Journal of Diseases and Medicinal Plants, 3, 1.

Mohamed, N. M., Makboul, M. A., Farag, S. F., Tarawneh, A. H., Khan, S. I., Brooks, T. A., Wang, Y.-H., Ross, S. A. 2017. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from the roots of *Lantana montevidensis*. Med. Chem. Res. 26, 1117–1126.

Mori, H.-M., Kawanami, H., Kawahata, H., Aoki, M. 2016. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF-β in a rat model. BMC Complement. Altern. Med. 16, 144–144.

Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M., Goodarzi, A. 2004. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. Flavour Frag. J. 19, 29–31.

Moslemi, H.-R., Tehrani-Sharif, M., Mohammmadpour, S., Makhmalbaf, A., Kafshdouzan, K., Ahadi, T., Mazaheri Nezhad Fard, R. 2015. Wound healing activity of *Origanum vulgare* against surgical wounds infected by *Staphylococcus aureus* in a rat model. Iran. J. Vet. Med. 9, 135–142.

Moslemi, H., Hoseinzadeh, H., Askari Badouei, M., Kafshdouzan, K., Fard, R. 2012. Antimicrobial activity of *Artemisia absinthium* against surgical wounds infected by *Staphylococcus aureus* in a rat model. Indian J. Microbiol. 52, 601–604.

Mostafa, E. 2018. Chapter 5: Ethnobotany/ethnopharmacology, and bioprospecting: issues on knowledge and uses of medicinal plants by moroccan people. Elsevier, 776 p.

Motaghi, S., Sadeghi, M., Seyyedin, S., Sepehri, G., Kheirandish, R. 2017. Histomorphometrical and histopathological evaluation of *Hedera helix* alcoholic extract on dermal collagen bundles. Anat. Sci. J. 14, 55–62.

Mukherjee, H., Ojha, D., Bharitkar, Y., Ghosh, S., Mondal, S., Kaity, S., Dutta, S., Samanta, A., Chatterjee, T., Chakrabarti, S., Mondal, N. B., Debprasad, C. 2013. Evaluation of the wound healing activity of *Shorea robusta*, an Indian ethnomedicine, and its isolated constituent(s) in topical formulation. J. Ethnopharmacol. 149, 335–343

Muniyandi, K., George, E., Sathyanarayanan, S., George, B. P., Abrahamse, H., Thamburaj, S., Thangaraj, P. 2019. Phenolics, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxidant and anticancer activities of *Rubus* fruits from Western Ghats, India. Food Sci. Hum. Wellness 8, 73–81.

Murthy, K., Reddy, V., Veigas, J., Murthy, U. 2004. Study on wound healing activity of *Punica granatum* Peel. J. Med. Food. 7, 256–259.

Murthy, S. R. S., Gautam, M., Goel, S., Purohit, V., Sharma, H. C., GoeL, R. 2013. Evaluation of *in vivo* wound healing activity of *Bacopa monniera* on different wound model in rats. BioMed Res. Int. 2013, 972028.

Nan, Z.-D., Zeng, K.-W., Shi, S.-P., Zhao, M.-B., Jiang, Y., Tu, P.-F. 2013. Phenylethanoid glycosides with anti-inflammatory activities from the stems of *Cistanche deserticola* cultured in Tarim desert. Fitoterapia 89, 167–174.

Nasiri, E., Hosseinimehr, S. J., Akbari, J., Azadbakht, M., Azizi, S. 2017. The effects of *Punica granatum* Flower extract on skin injuries induced by burn in rats. Adv. Pharmacol. Sci. 1–8.

Nayak, S., Nalabothu, P., Sandiford, S., Bhogadi, V., Adogwa, A. 2006. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica* L. and *Laurus nobilis* L. extracts on rats. BMC Complement. Altern. Med. 6, 12.

Nayak, S., Suraparaju, S. R., Rao, C. 2007. Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. J. Wound Care. 16, 298–302.

Nazemiyeh, H., Rahman, M., Gibbons, S., Nahar, D. L., Delazar, A., Ghahramani, M.-A., Talebpour, A.-H., Sarker, S. 2008. Assessment of the antibacterial activity of phenylethanoid glycosides from *Phlomis lanceolata* against multiple-drug-resistant strains of Staphylococcus aureus. J. Nat. Med. 62, 91–95.

Nazemiyeh, H., Shoeb, M., Movahhedin, N., Kumarasamy, Y., Talebpour, A.-H., Delazar, A., Nahar, L., Sarker, S. D. 2006. Phenolic compounds and their glycosides from *Stachys schtschegleevii* (Lamiaceae). Biochem. Syst. Ecol. 34, 721–723.

Ndjateu, F. S. T., Tsafack, R. B. N., Nganou, B. K., Awouafack, M. D., Wabo, H. K., Tene, M., Tane, P., Eloff, J. N. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts and ten compounds from three *Cameroonian medicinal* plants: Dissotis perkinsiae (Melastomaceae), *Adenocarpus mannii* (Fabaceae) and *Barteria fistulosa* (Passifloraceae). S. Afr. J. Bot. 91, 37–42.

Nebieridze, V., Skhirtladze, A., Kemertelidze, E., Ganzera, M. 2018. Megastigmane glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. Chem. Nat. Compd.54, 63–65.

Netter.F.H 2009. Atlas d'anatomie humaine. Masson, 546 p.

Nicolaus, C., Junghanns, S., Hartmann, A., Murillo, R., Ganzera, M., Merfort, I. 2017. *In vitro* studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. J. Ethnopharmacol. 94–103.

Nidhal, N., Zhou, X.-M., Chen, G., Zhang, B., Han, C., Song, X. 2020. Chemical constituents of Leucas zeylanica and their chemotaxonomic significance. Biochem. Syst. Ecol. 89**,** 104006.

Nie, H., Guan, X.-L., Li, J., Zhang, Y.-J., He, R.-J., Huang, Y., Liu, B.-M., Zhou, D.-X., Deng, S.-P., Chen, H.-C., Yang, R.-Y., Li, J. 2016. Antimicrobial lignans derived from the roots of *Streblus asper*. Phytochem. Lett. 18,226–231.

Ningsih, D. 2017. Total alkaloid content in various fractions of *Tabernaemonata sphaerocarpa* Bl. (Jembirit) leaves. IOP Conf. Ser., Mater. Sci. 259, 012017.

Ninomiya, K., Morikawa, T., Zhang, Y., Nakamura, S., Matsuda, H., Muraoka, O., Yoshikawa, M. 2007. Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XXIII. Absolute structures of new megastigmane glycosides, sedumosides A(4), A(5), A(6), H, and I, and hepatoprotective megastigmanes from *Sedum sarmentosum*. Chem. Pharm. Bull. 55, 1185–1191.

Niu, Y.-X., Wang, D., Chu, X.-Y., Gao, S.-Y., Yang, D.-X., Chen, L.-X., Li, H. 2020. Iridoids from *Vitex negundo* var. heterophylla and their antioxidant activities. Phytochem. Lett. 35, 186–190.

Nourbar, E., Mirazi, N., Yari, S., Rafieian-Kopaei, M., Nasri, H. 2019. Effect of Hydroethanolic extract of *Nigella sativa* L. on skin wound healing process in diabetic male rats. Int. J. Prev. Med. 10, 18.

OCDE 2015. Test No. 404: Acute dermal irritation/corrosion.

Olennikov, D. N., Chirikova, N. K. 2017. Phlotuberosides I and II, new iridoid glycosides from *Phlomoides tuberosa*. Chem. Nat. Compd. 53, 269–272.

Ong, H. G., Kim, Y.-D. 2014. Quantitative ethnobotanical study of the medicinal plants used by the Ati Negrito indigenous group in Guimaras island, Philippines. J. Ethnopharmacol. 157, 228–242.

Ono, M., Mishima, K., Yamasaki, T., Masuoka, C., Okawa, M., Kinjo, J., Ikeda, T., Nohara, T. 2009. A new lignan glucoside from the stems of *Callicarpa japonica* Thunb. var. luxurians Rehd. J. Nat. Med. 63, 86–90.

Oran, S. 2015. Ultrastructure of pollen grains of the genus *Phlomis* L. (Lamiaceae) in Jordan. Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol. 83–87.

Ornano, L., Feroci, M., Guarcini, L., Venditti, A., Bianco, A. 2018. Chapter 6 - Anti-HIV Agents from nature: Natural compounds from *Hypericum hircinum* and carbocyclic

nucleosides from iridoids. In: A. Ur Rahman (ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier 56, 173–221.
Oscar, S.-A., Antonio, C.-N., Marina, G.-V., Elsa, R.-S., Gabriel, V.-A. 2020. Phytochemical screening, antioxidant activity and *in vitro* biological evaluation of leave extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) poit. S. Afr. J. Bot. 128, 62–66.
Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., Khelifi, D. 2016. Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). J. Ethnopharmacol. 194, 196–218.
Ozbilgin, S., Bahadir, O., Süntar, I., Keles, H., Çitoğlu, G. 2018. *In vivo* wound-healing activity of *Euphorbia characias* subsp. wulfenii : Isolation and quantification of quercetin glycosides as bioactive compounds. J. Ethnopharmacol. 224.
Ozenda, P. 2004. Flore et végétation du Sahara septentrional et central. 3e édition.
Ozturk, N., Korkmaz, S., Ozturk, Y., Baser, K. H. 2006. Effects of gentiopicroside, sweroside and swertiamarine, secoiridoids from gentian (*Gentiana lutea* ssp. *symphyandra*), on cultured chicken embryonic fibroblasts. Planta Med.72, 289–294.
Pacifico, S., D'abrosca, B., Pascarella, M. T., Letizia, M., Uzzo, P., Piscopo, V., Fiorentino, A. 2009. Antioxidant efficacy of iridoid and phenylethanoid glycosides from the medicinal plant *Teucrium chamaedris* in cell-free systems. Bioorg. Med. Chem. 17, 6173–6179.
Pandeti, S., Sharma, K., Bathula, S. R., Tadigoppula, N. 2014. Synthesis of novel anticancer iridoid derivatives and their cell cycle arrest and caspase dependent apoptosis. Phytomedicine 21, 333–339.
Pandey, A., Tripathi, Y. 2017. Ethnobotany and Its Relevance in Contemporary Research. J. Med. Plants Stud. 5, 123–129.
Park, J. E., Barbul, A. 2004. Understanding the role of immune regulation in wound healing. Am. J. Surg. 187, S11–S16.
Pashaee, M., Shiravi, A. Hojati, V. 2016. The effect of hydroalcoholic extract of *Berberis vulgaris* on wound healing of diabetic wistar rats. J. Chem. Health Risks 6, 319–325.
Patil, M., Kandhare, A., Bhise, S. 2012. Pharmacological evaluation of ethanolic extract of *Daucus carota* Linn root formulated cream on wound healing using excision and incision wound model. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2, S646–S655.
Patil, M. V., Kandhare, A., Bhise, S. 2011. Pharmacological evaluation of ameliorative effect of aqueous extract of *Cucumis sativus* L. fruit formulation on wound healing in Wistar rats. Chron. Young Sci. 2, 207–213.
Pepe, G., Sommella, E., Manfra, M., De Nisco, M., Tenore, G. C., Scopa, A., Sofo, A., Marzocco, S., Adesso, S., Novellino, T., Campiglia, P. 2015. Evaluation of anti-inflammatory activity and fast UHPLC–DAD–IT-TOF profiling of polyphenolic compounds extracted from green lettuce (*Lactuca sativa* L.; var. *maravilla de verano*). Food Chem. 167, 153–161.
Pertuit, D., Larshini, M., Brahim, M. A., Markouk, M., Mitaine-Offer, A.-C., Paululat, T., Delemasure, S., Dutartre, P., Lacaille-Dubois, M.-A. 2017. Triterpenoid saponins from the roots of *Spergularia marginata*. Phytochemistry 139, 81–87.
Pharmacopée européenne 10 éme Edition.
Phillips, O., Gentry, A. H. 1993. The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. Econ. Bot. 47, 15–32.
Prance, G. T. 1991. What is ethnobotany today? J. Ethnopharmacol. 32, 209–216.
Prost-Squarcioni, C. 2006. Histologie de la peau et des follicules pileux. Med. Sci. 22, 131–137.
Prost-Squarcioni, C., Fraitag, S., Heller, M. 2005. Histologie et histophysiologie de la peau et de ses annexes. Ann. Dermatol. Vener. 22, 131–137.

Qiu, C., Coutinho, P., Frank, S., Franke, S., Law, L.-Y., Martin, P., Green, C. R., Becker, D. L. 2003. Targeting connexin 43 expression accelerates the rate of wound repair. Curr Biol.13, 1697–1703.

Qu, K., Zhao, L., Luo, X., Zhang, C., Hou, P., Bi, K., Chen, X. 2014. An LC–MS method for simultaneous determination of five iridoids from Zhi-zi-chi decoction in rat brain microdialysates and tissue homogenates: Towards an in depth study for its antidepressive activity. J. Chromatogr. B, 965, 206–215.

Quézel, P., Santa, S. 1963. Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2 Tomes. Editions CNRS, Paris, 1170.

Raeiszadeh, M., Esmaeili-Tarzi, M., Bahrampour-Juybari, K., Nematollahi-Mahani, S. N., Pardakhty, A., Nematollahi, M. H., Mehrabani, M. 2018. Evaluation the effect of *Myrtus communis* L. extract on several underlying mechanisms involved in wound healing: An *in vitro* study. S. Afr. J. Bot. 118, 144–150.

Rafiee, S., Nekouyian, N., Hosseini, S., Sarabandi, F., Chavoshi-Nejad, M., Mohsenikia, M., Yadollah-Damavandi, S., Seifaee, A., Jangholi, E., Eghtedari, D., Najafi, H., Ashkani Esfahani, S. 2016. The effects of topical *Linum usitatissimum* on full thickness excisional skin wounds in rat models. Trauma Mon. 22.

Rahman, I. U., Afzal, A., Iqbal, Z., Ijaz, F., Ali, N., Shah, M., Ullah, S., Bussmann, R. W. 2019. Historical perspectives of ethnobotany. Clin. Dermatol. 37, 382–388.

Rahul, J. 2013. An ethnobotanical study of medicinal plants in taindol village, district Jhansi, region of Bundelkhand, Uttar Pradesh, India. J. Med. Plants Stud.1, 59–71.

Rauf, A., Patel, S., Uddin, G., Siddiqui, B. S., Ahmad, B., Muhammad, N., Mabkhot, Y. N., Hadda, T. B. 2017. Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. Biomed. Pharmacother. 86, 393–404.

Razika L, T. A., Nadjiba Cm, Narimen B, Mahdi Dm, Karim A. 2017. Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. Pak. J. Pharm. Sci. 30, 1023–1029.

Rebolla, A., Arisawa, E., Barja, P., Posso, M., Carvalho, C. 2013. Effect of *Brassica oleracea* in rats skin wound healing. Acta Cir. Bras. 28, 664–669.

Recio, M. G., Rm., Manez, S., Rios, J. 1994. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. Planta Medica. 60, 232–234.

Riaz, N., Rafiq, H., Saleem, M., Jabeen, B., Ashraf, M., Ahmed, I., Tahir, T., Tareen, R. 2019. Lipoxygenase and α-Glucosidase Inhibitory Constituents of *Phlomis stewartii*. Chem. Nat. Compd. 55, 493–498.

Rosenthal, Joshua P. 2006. Politics, culture, and governance in the development of prior informed consent in indigenous communities. Curr. Anthropol. 47, 119–142.

Salhi, N., Bouyahya, A., Fettach, S., Zellou, A., Cherrah, Y. 2018. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in the treatment of skin burns in occidental Morocco (area of Rabat). S. Afr. J. Bot. 121, 128–142.

Salih, A. M., Kakamad, F. H., Salih, R. Q., Hussein, D. A., Hassan, H. A., Mekail, T. M., Abdul Aziz, J. M., Aube, H. 2017. Effect of *Lawsonia inermis* (Henna) on wound healing in Sprague-Dawley rats: A pilot study. Wound Medicine 18, 41–42.

Sam, K., Senthilkumar, B., Ramachandran, S., Muniyandy, S., Sridhar, S. 2001. Antioxidant and wound healing properties of *Glycyrrhiza glabra* root extract. Indian Drugs 38, 355–357.

Samejo, M., Sumbul, A., Shah, S., Memon, S., Chundrigar, S. 2013. Phytochemical screening of *Tamarix dioica* Roxb. ex Roch. J. Pharm. Res. 7, 181–183.

Sami, D. G., Heiba, H. H., Abdellatif, A. 2019. Wound healing models: A systematic review of animal and non-animal models. Wound Medicine 24, 8–17.

Saracoglu, I., Inoue, M., Calis, I., Ogihara, Y. 1995. Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. Biol. Pharm. Bull. 18, 1396–4000.

Saracoglu, I., Varel, M., Calis, I. & Dönmez, A. 2003. Neolignan, flavonoid, phenylethanoid and iridoid glycosides from *Phlomis integrifolia* Turk. J. Chem. 27, 739–747.

Sarikurkcu, C., Uren, M. C., Tepe, B., Cengiz, M., Kocak, M. S. 2014. Phenolic content, enzyme inhibitory and antioxidative activity potentials of *Phlomis nissoli*i and *P. pungens* var. *pungens*. Ind. Crops Prod. 62, 333–340.

Sarkhail, P., Nikan, M., Sarkheil, P., Gohari, A. R., Ajani, Y., Hosseini, R., Hadjiakhoondi, A., Saeidnia, S. 2014. Quantification of verbascoside in medicinal species of *Phlomis* and their genetic relationships. Daru J. Pharm. Sci. 22, 32–32.

Sarkhail, P., Rahmanipour, S., Fadyevatan, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Amin, G., Shafiee, A., Abdollahi, M. 2007. Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. Pharmacol. Res. 56, 261–266.

Selenge, E., Murata, T., Kobayashi, K., Batkhuu, J., Yoshizaki, F. 2013. Flavone tetraglycosides and benzyl alcohol glycosides from the Mongolian medicinal plant *Dracocephalum ruyschiana*. J. Nat. Prod. 76, 186–193.

Senet, P. 2007. Physiologie de la cicatrisation cutanée. EMC - Dermatologie 2, 1–9.

Senger, D. R., Hoang, M. V., Kim, K. H., Li, C., Cao, S. 2016. Anti-inflammatory activity of *Barleria lupulina*: Identification of active compounds that activate the Nrf2 cell defense pathway, organize cortical actin, reduce stress fibers, and improve cell junctions in microvascular endothelial cells. J. Ethnopharmacol. 193, 397–407.

Shang, X., Wang, J., Li, M., Miao, X., Pan, H., Yang, Y., Wang, Y. 2011a. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Phlomis umbrosa* Turcz extract. Fitoterapia 82, 716–721.

Shao, S.-Y., Zhang, F., Feng, Z.-M., Yang, Y.-N., Jiang, J.-S., Zhang, P.-C. 2017. Neuroprotective phenylethanoid glycosides with dioxane units from the fruits of *Forsythia suspensa*. Tetrahedron 73, 6262–6267.

Sharma, S., Yousef, H. 2017. Anatomy, Skin (Integument), epidermis. StatPearls Publishing.

Shenoy, C., Patil, M., Kumar, R., Patil, S. 2009. Preliminary phytochemical investigation and wound healing activity of *Allium cepa* Linn (Liliaceae). Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2, 167–175.

Shim, K. M., Choi, S. H., Jeong, M. J., Kang, S. S. 2007. Effects of aucubin on the healing of oral wounds. In Vivo 21, 1037–1041.

Shirwaikar, A., Somashekar, A. P., Udupa, A. L., Udupa, S. L., Somashekar, S. 2003. Wound healing studies of *Aristolochia bracteolata* Lam. with supportive action of antioxidant enzymes. Phytomedicine 10, 558–562.

Siddique, Z., Shah, G. M., Ahmed, H. M., Nisa, S., Khan, A., Idrees, M., Naz, S., Waqas Hassan, S., Mohiuddin, M. 2019. Ethnophytotherapy practices for wound healing among populations of district haripur, KPK, Pakistan. Evid. Based Complement . Alternat. Med. 4591675.

Sifour, M., Ouled-Haddar, H., Ouites, L., Kerfa, A. 2012. Burn healing activity of aqueous extract of *Atractylis gummifera*. Séminaire international : Cancer, stress cellulaire et substances bioactives.

Silva, S., Costa, C., Gelfuso, G., Guerra, E., Nóbrega, Y., Sueli Maria, G., Pic-Taylor, A., Fonseca-Bazzo, Y., Silveira, D., Magalhães, P. 2019. Wound healing effect of essential oil extracted from *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaves. Molecules 24, 2.

Singer, A. J., Clark, R. A. 1999. Cutaneous wound healing. N. Engl. J. Med. 340(10), 738–746.
Singh, S., Young, A., Mcnaught, C.-E. 2017. The physiology of wound healing. Surgery (Oxford) 35, 473–477.
Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult.16, 144–158.
Song, X., Li, C.-Y., Zeng, Y., Wu, H.-Q., Huang, Z., Zhang, J., Hong, R.-S., Chen, X.-X., Wang, L.-Y., Hu, X.-P., Su, W.-W., Li, Y., He, Z.-D. 2012. Immunomodulatory effects of crude phenylethanoid glycosides from *Ligustrum purpurascens*. J. Ethnopharmacol. 144, 584–591.
Sotoing Taiwe, G., Dabole, B., Tchoya, T., Menanga, J. R., Dzeufiet, P., Waard, M. 2016. Anticonvulsant effects of iridoid glycosides fraction purified from *Feretia apodanthera* Del. (Rubiaceae) in experimental mice models of generalized tonic-clonic seizures. BMC Complement. Altern. Med. 16, 285.
Sowndhararajan, K., Deepa, P., Kim, M., Park, S. J., Kim, S. 2017. An overview of neuroprotective and cognitive enhancement properties of lignans from *Schisandra chinensis*. Biomed. Pharmacother. 97, 958–968.
Stevens, P. F. 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/. Consulté le 23/11/19 .
Stevenson, P. C., Simmonds, M. S., Sampson, J., Houghton, P. J., Grice, P. 2002. Wound healing activity of acylated iridoid glycosides from *Scrophularia nodosa*. Phytother. Res. 16, 33–35.
Sudo, H., Ide, T., Otsuka, H., Hirata, E., Takushi, A., Shinzato, T., Takeda, Y. 2000. Megastigmane, benzyl and phenethyl alcohol glycosides, and 4,4'-dimethoxy-beta-truxinic acid catalpol diester from the leaves of *Premna subscandens* MERR. Chem. Pharm. Bull. 48, 542–546.
Sun, J.-M., Yang, J.-S., Zhang, H. 2007. Two new flavanone glycosides of *Jasminum lanceolarium* and their anti-oxidant activities. Chem. Pharm. Bull. 55, 474–476.
Suntar, I., Akkol, E. K., Keles, H., Oktem, A., Baser, K. H., Yesilada, E. 2011. A novel wound healing ointment: a formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. J. Ethnopharmacol. 134, 89–96.
Süntar, I., Akkol, E. K., Nahar, L., Sarker, S. D. 2012. Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants? Free Radic. Antiox. 2, 1–7.
Süntar, I., Tatlı, I. I., Küpeli Akkol, E., Keleş, H., Kahraman, Ç.,Akdemir, Z. 2010. An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: From conventional wound healing use to scientific verification. J. Ethnopharmacol. 132, 408–413.
Süntar, I., Tumen, I., Ustün, O., Keles, H. 2011. Appraisal on the wound healing and anti-inflammatory activities of the essential oils obtained from the cones and needles of *Pinus* species by *in vivo* and *in vitro* experimental models. J. Ethnopharmacol. 139, 533–540.
Suzuki, M., Tung, N. H., Kwofie, K. D., Adegle, R., Amoa-Bosompem, M., Sakyiamah, M., Ayertey, F., Owusu, K. B.-A., Tuffour, I., Atchoglo, P., Frempong, K. K., Anyan, W. K., Uto, T., Morinaga, O., Yamashita, T., Aboagye, F., Appiah, A. A., Appiah-Opong, R., Nyarko, A. K., Yamaoka, S., Yamaguchi, Y., Edoh, D., Koram, K., Ohta, N., Boakye, D. A., Ayi, I., Shoyama, Y. 2015. New anti-trypanosomal active tetracyclic iridoid isolated from *Morinda lucida* Benth. Bioorg. Med. Chem. Lett. 25, 3030–3033.
Takeda, Y., Isai, N., Masuda, T., Honda, G., Takaishi, Y., Ito, M., Otsuka, H., Ashurmetov, O., Khojimatov, O. 2001. ChemInform Abstract: Phlomisflavosides A and B, New flavonol bisglycosides from *Phlomis spinidens*. Chem. Pharm. Bull. 49, 1039–1041.

Takeda, Y., Isai, N., Masuda, T., Otsuka, H., Honda, G., Takaishi, Y., Kiuchi, F., Ito, M., Ashurmetov, O. A., Khojimatov, O. 2002. A new megastigmane glucoside from *Phlomis spinidens*. Nat. Med. 56, 200–203.

Takeda, Y., Kinugawa, M., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E., Yesilada, E. 1999. Phlomisethanoside, a phenylethanoid glycoside from *Phlomis grandiflora* var. *grandiflora*. Phytochemistry 51, 323–325.

Takeda, Y., Matsumura, H., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Takaishi, Y., Sezik, E., Yesilada, E. 2000. Phlorigidosides A–C, iridoid glucosides from *Phlomis rigida*. Phytochemistry 53, 931–935.

Tamert, A., Latreche, A. 2016. Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale. Phytotherapie.

Tan, J. J., Tan, C.-H., Li, M., Jiang, S. H. Zhu, D. Y. 2007. Iridoid glycosides from *Lamiophlomis rotata*. Helv. Chim. Acta 90, 143–148.

Tanaka, T., Ikeda, T., Kaku, M., Zhu, X. H., Okawa, M., Yokomizo, K., Uyeda, M., Nohara, T. 2004. A new lignan glycoside and phenylethanoid glycosides from *Strobilanthes cusia* BREMEK. Chem. Pharm. Bull. 52, 1242–1245.

Tanaka, T., Tanaka, O., Lin, Z. W., Zhou, J., Ageta, H. 1983. Sweet and bitter glycosides of the Chinese plant drug, bai-yun-shen (roots of *Salvia digitaloides*). Chem. Pharm. Bull. 31, 780–783.

Tardío, J., Pardo De Santayana, M. 2008. Cultural Importance Indices: A Comparative analysis based on the useful wild plants of southern Cantabria (Northern Spain). Econ. Bot. 62, 24–39.

Tessema, Z., Makonnen, E., Debella, A., Molla, Y. 2018. Evaluation of *in vivo* wound healing and anti-inflammatory activity of crude extract of the fruits of *Brucea antidysentrica* in mice. Wound Medicine, 21, 16–21.

Thao, N., Luyen, B., Diep, C., Tai, B., Kim, E.-J., Kang, H., Lee, S. H., Jang, H., Nguyen The, C., Van Thanh, N., Cuong, N., Nam, N., Minh, C., Kim, Y. H. 2014. *In vitro* evaluation of the antioxidant and cytotoxic activities of constituents of the mangrove *Lumnitzera racemosa* Willd. Arch. Pharm. Res. 38, 446–455.

Tian, Y.-Y., Jiang, B., An, L.-J., Bao, Y.-M. 2007. Neuroprotective effect of catalpol against MPP+-induced oxidative stress in mesencephalic neurons. Eur. J. Pharmacol. 568, 142–148.

Timoteo, P., Karioti, A., Leitao, S. G., Vincieri, F. F., Bilia, A. R. 2015. A validated HPLC method for the analysis of herbal teas from three chemotypes of Brazilian *Lippia alba*. Food Chem. 175, 366–373.

Tomás, F., Nieto, J. L., Tomás-Barberán, F., Ferreres, F. 1986. Flavonoids from *Phlomis lychnit*ys. Phytochemistry 25, 1253–1254.

Trøstrup, H., Thomsen, K., Calum, H., Høiby, N., Moser, C. 2016. Animal models of chronic wound care: the application of biofilms in clinical research. Chronic wound care manag. res. 3, 123–132.

Tumen, I., Akkol, E. K., Tastan, H., Suntar, I., Kurtca, M. 2018. Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). J. Ethnopharmacol. 211, 235–246.

Tumen, I., Süntar, I., Keles, H. 2012. A Therapeutic approach for wound healing by using essential oils of *Cupressus* and *Juniperus* species growing in Turkey. Evid. Based Complementary Altern. Med. 728281.

Umachigi, S., Jayaveera, K. N., Ck, A. K., Kumar, S., Swamy, B., Kumar, D. 2008. Studies on wound healing properties of *Quercus infectoria*. Trop. J. Pharm. Res. 7, 913–919.

Upton, R. G., A; Joliffe, G; Langer, R; Williamson, E. 2011. American herbal pharmacopoeia. Botanical pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines. CRC Press, 800 p.

Vafaei, F., Abdollahzadeh, F. 2015. Investigating the effects of hydroalcoholic extract of jujube fruit (*Zizyphus vulgaris* L.) on second degree burn wound healing in Balb/c mice. J. Med. Life 8, 117–120.

Vallejo, J. R., Peral, D., Gemio, P., Carrasco, M., Heinrich, M., Pardo De Santayana, M. 2009. *Atractylis gummifera* and *Centaurea ornata* in the province of Badajoz (Extremadura, Spain). Ethnopharmacological importance and toxicological risk. J. Ethnopharmacol. 126, 366–370.

Van De Velde, F., Esposito, D., Grace, M. H., Pirovani, M. E., Lila, M. A. 2019. Anti-inflammatory and wound healing properties of polyphenolic extracts from strawberry and blackberry fruits. Food Res. Int. 121, 453–462.

Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. J. Int. Med. Res. 37, 1528–1542.

Verma, P. C., Basu, V., Gupta, V., Saxena, G., Ur Rahman, L. 2009. Pharmacology and chemistry of a potent hepatoprotective compound picroliv isolated from the roots and rhizomes of *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. (Kutki). Curr. Pharm. Biotechnol.10, 641–649.

Vidyalakshmi, K., Rajamanickam, G. V. 2009. An iridoid with anticancer activity from the sepals of *Mussaenda* "dona aurora". Indian J. Chem. 48, 1019–1022.

Viljoen, A., Mncwangi, N., Vermaak, I. 2012. Anti-inflammatory iridoids of botanical origin. Curr. Med. Chem. 19, 2104–2127.

Wang, L.-C., Zhang, D., Wang, N., Li, S., Tan, H.-Y., Feng, Y. 2019. Polyphenols of chinese skullcap roots: from chemical profiles to anticancer effects. RSC Adv. 9, 25518–25532.

Wang, P.-H., Huang, B.-S., Horng, H.-C., Yeh, C.-C., Chen, Y.-J. 2018. Wound healing. J. Chin. Med. Assoc.81, 94–101.

WHO 1999. WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 1. 289.

WHO 2002. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005.

Willför, S. M., Smeds, A. I., Holmbom, B. R. 2006. Chromatographic analysis of lignans. J. Chromatogr. A, 1112, 64–77.

Williamson, M., Drive, S., Baxter, K. 2009. Stockley's herbal medicines interactions. Pharmaceutical Press. 423p.

Willow, J. H. 2011. Traditional herbal medicine research methods: identification, analysis, bioassay, and pharmaceutical and clinical studies, Wiley, 488 p.

Wodehouse, R. P. 1935. Pollen Grains: Their structure, identification and significance in science and medicine. McGraw-Hill Book Company, New York, NY, 574 p.

Wong, V., Sorkin, M., Glotzbach, J., Longaker, M., Gurtner, G. 2011. Surgical approaches to create murine models of human wound healing. J. Biomed. Biotechnol. 2011, 1–8.

Wu, L., Wang, X., Xu, W., Farzaneh, F., Xu, R. 2009. The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives. Curr. Med. Chem. 16, 4236–4260.

Xu, X.-H., Tan, C.-H., Jiang, S.-H., Zhu, D.-Y. 2006. Debilosides A–C: Three new megastigmane glucosides from *Equisetum debile*. Helv. Chim. Acta 89, 1422–1426.

Yadav, E., Singh, D., Yadav, P., Verma, A. 2018. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Prosopis cineraria* based phenolic rich ointment in wound healing. Biomed. Pharmacother. 108, 1572–1583.

Yalçin, F., Ersöz, T., Akbay, P., Calis, I., Dönmez, A., Sticher, O. 2003a. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Phlomis samia*, P. monocephala and P. carica. Turk. J. Chem. 27, 295–305.

Yalçin, F., Ersöz, T., Akbay, P., Calis, I., Dönmez, A., Sticher, O. 2003b. Phenolic, megastigmane, nucleotide, acetophenon and monoterpene glycosides from *Phlomis samia* and *P. carica*. Turk. J. Chem. 27, 703–711.

Yalçin, F., Kaya Bilecenoglu, D., Calis, I., Ersöz, T., Palaska, E. 2008. Determination of iridoid glycosides from four Turkish *Lamium* species by HPLC-ESI/MS. Turk. J. Chem. 32, 457–467.

Yalcin, F. N., Ersöz, T., Bedir, E., Sahpaz, S., Bailleul, F., Khan, I.A., Dönmez, A.A., Calis, I 2005. Phlinoside F, a new phenylethanoid glycoside from *Phlomis angustissima*. Turk. J. Chem. 29, 417–423.

Yalçın FUNDA, N., Ersöz, T., Bedir, E., Dönmez Ali, A., Stavri, M., Zloh, M., Gibbons, S., Çaliş, İ. 2006. Amanicadol, a Pimarane-type diterpene from *Phlomis amanica* Vierch. Z. Naturforsch. 61b, 1433–1436.

Yang, S., Sun, F., Ruan, J., Yan, J., Huang, P., Wang, J., Han, L., Zhang, Y., Wang, T. 2019. Anti-inflammatory constituents from cortex Dictamni. Fitoterapia 134, 465–473.

Yu, Z.-X., Wang, G.-L., Bianba, C., Lin, R.-C. 2006. Studies on chemical constituents of Phlomis medicinalis II. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 31, 656–658.

Yuasa, K., Ide, T., Otsuka, H., Takeda, Y. 1993. Premnafolioside, a new phenylethanoid, and other phenolic compounds from stems of *Premna corymbosa* var. *obtusifolia.* J. Nat. Prod. 56, 1695–1699.

Yue, J.-R., Feng, D.-Q., Xu, Y.-K. 2015. A new triterpenoid bearing octacosanoate from the stems and roots of *Clerodendrum philippinum* var. *simplex* (Verbenaceae). Nat. Prod. Res. 29, 1–7.

Zaabat, N., Akkal, S., Darboure, N., Laouer, H., Dijoux-Franca, M.-G., Duddeck, H. 2010. Secondary metabolites of an Algerian *Phlomis bovei* and their antioxidant activities. Chem. Nat. Compd. 46, 454–455.

Zálešák, F., Bon, D., Pospisil, J. 2019. Lignans and neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. Pharmacol. Res. 146, 104284.

Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., Ceylan, O. 2014. A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. Ind. Crops Prod. 53, 244–251.

Zhang, C.-Z., Li, C., Feng, S.-I., Shi, J.-G. 1991. Iridoid glucosides from *Phlomis rotata*. Phytochemistry 30, 4156–4158.

Zhang, C., Li, C. 1996. Iridoid glucosides from *Phlomis mongolica* Turcz. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 21, 36–7, 64.

Zhang, H.-J., Rothwangl, K., Mesecar, A., Sabahi, A., Rong, L., Fong, H. 2009. Lamiridosins, hepatitis c virus entry inhibitors from *Lamium album*. J. Nat. Prod. 72, 2158–2162.

Zhang, J., Chen, J., Liang, Z. & Zhao, C. 2014. New lignans and their biological activities. Chem. Biodivers. 11, 1–54.

Zhang, J., Huang, Z., Huo, H. X., Li, Y. T., Pang, D. R., Zheng, J., Zhang, Q., Zhao, Y. F., Tu, P. F., Li, J. 2015. Chemical constituents from *Lagopsis supina* (Steph.) Ik.-Gal. ex Knorr. Biochem. Syst. Ecol. 61, 424–428.

Zhang, M., Ren, X., Yue, S.-J., Zhao, Q., Shao, C.-L.,Wang, C. 2019. Simultaneous quantification of four phenylethanoid glycosides in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study of *Acanthus ilicifolius* herb. Molecules 24, 3117.

Zhang, Q., Lei, H., Penglong, W., Ma, Z.-Q., Zhang, Y., Wu, J.-J., Nie, J., Chen, S.-J., Han, W.-J., Wang, Q., Chen, D.-Y., Cai, C.-K., Li, Q. 2017a. Bioactive components from qingwen baidu decoction against LPS-induced acute lung injury in rats. Molecules 22, 692.

Zhang, Q., Mao, Z., Zhang, Q., Qiu, J., Jia, Z., Qin, L. 2017b. Acute and sub-chronic toxicological studies of the iridoid glycosides extract of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo in rats. Regul. Toxicol. Pharmacol. 92, 315–323.

Zhang, Y., Cichewicz, R. H., Nair, M. G. 2004. Lipid peroxidation inhibitory compounds from daylily (*Hemerocallis fulva*) leaves. Life Sci. 75, 753–763.

Zhang, Y., Wang, Z.-Z. 2009. Phenolic composition and antioxidant activities of two *Phlomis* species: A correlation study. C. R. Biol. 332, 816–826.

Zhang, Z.-X., Xie, W. D., Jia, Z.-J. 2008. Glycosides from two *Pedicularis* species. Biochem. Syst. Ecol. 36, 467–472.

Zhou, Y., Jin, M., Jin, C., Ye, C., Wang, J., Wang, R., Wei, C., Zhou, W.,Li, G. 2019. Megastigmane derivatives from *Corispermum mongolicum* and their anti-inflammatory activities. Phytochem. Lett. 30, 186–189.

Zouari Bouassida, K., Bardaa, S., Khimiri, M., Rebaii, T., Tounsi, S., Jlaiel, L., Trigui, M. 2017. Exploring the *Urtica dioica* leaves hemostatic and wound-healing potential. Biomed Res. Int. 2017,1–10.

ANNEXES

Annexe 1 : Préparations des réactifs

Alcool formolé acétique (AFA)

- Alcool à 80° :100 ml
- Formol à 38 % :10 ml
- Acide acétique glacial : 5 ml
- Saccharose : 10 g
- Eau distillée : 20 ml

Rouge Congo (diphényldiazobis-1-naphtylaminesulfonate de disodium

- Dissoudre 0,1 g de rouge congo dans 100 ml d'eau distillée

Réactif D'Ehrlich

- 1 g de p–dimethylaminobenzaldehyde
- 50 ml d'éthanol a 95 %
- 50 ml d'acide chlorhydrique concentré.

Il vaut mieux de le préparer au moment de l'usage.

Réactif de Bouchardat :

- Iode bisublimé……2 g
- KI……2 g
- Eau distillée……100 ml

Réactif de Dragendorff :

- Bismuth……20,80 g
- Iode bisublimé……...38.10 g
- Iodure de sodium……...200 g
- Eau distillée……1000 ml

Réactif de Gazet du Chatelier

- Acide lactique pur : 60 ml
- Acide lactique saturé au Soudan III : 45 ml
- Sulfate d'aniline : 1,10 g
- Iode bisublimé : 0,10 g
- Iodure de potassium :1 g
- Alcool à 95° : 10 ml
- HCL concentré et pur : 6 ml
- Eau distillée : 80 ml

Réactif de Stiasny

- Formaldéhyde : 10 ml
- HCl concentré.: 5 ml

Réactif de Valser Mayer :

- Iodure de potassium……25 g
- Chlorure mercurique……...6.77 g
- Eau distillée……500 ml

Vanilline sulfurique

- Solution A : Vanilline à 1% dans l'éthanol
- Solution B : H_2SO_4

La solution est préparée avec un rapport A-B (50:1)

Vert de méthyle acétique

- 100 ml d'eau distillée
- 1 ml d'acide acétique
- Dissoudre 1 gramme de vert de méthyle en poudre.

Annexe 2 : Questionnaire de l'etude ethnobotanique

Université Oran1 Ahmed Ben Bella

Département de pharmacie

Laboratoire de Botanique Médicale

Fiche d'enquête ethnobotanique :
Plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle.

N° :

Lieu de l'enquête : 1-Alger, 2- Annaba, 3-Bejaia , 4-Bechar, 5-Constantine, 6-Chlef, 7-Ghardaia, 8- Oran 9- Oum El Bouaghi, 10- Médéa, 11 -Sidi Belabbes, 12 – Skikda, 13-Tissemssilt, 14-TiziOuzou, 15-Tlemcen, 16- Mostaganem

Age :.....

Classe d'age 1- [20-29 [2- [40-49[3- [50-59[3- [60-69[4- [70-79[

Sexe 1- Masculin 2- Féminin

Niveau d'étude 1- Analphabète 2- Primaire 3-Moyen 4- Secondaire 5- Universitaire

Situation professionnelle 1- Sans profession 2- Travailleur Occasionnel 3- Permanant

Situation financière 1-Non Satisfait 2-Plus au moins satisfait 3-Satisfait 4- Fort Satisfait

Habitat : 1- zone rurale, 2- zone urbaine

Place de la médecine traditionnelle dans l'usage local

1- Avez-vous utilisé des plantes médicinales ? 1- Oui 2 –Non

2- Qu'est est ce que vous les utilisez ?
   1- Avant d'avoir recours à la médecine traditionnelle
   2- Après échec de la médecine traditionnelle
   3- En complément de celle-ci
   4- Autre :.....

3- Pourquoi vous soignez –vous avec les plantes médicinales ?
   1- Elles sont sans danger
   2- Elles sont plus efficaces
   3- Habitude
   4- Autre :

4- Par quel biais connaissais-vous les plantes médicinales ?
   1- Héritage familier/Expérience des autres
   2- Herboriste
   3- Pharmacien
   4- Médecin
   5- Culture générale
   6- Autre :

5- Conduite à tenir devant une atteinte cutanée :1- Non, 2-Oui
   1- Consultation médicale
   2- Consultation pharmaceutique
   3- Plantes cicatrisantes

6- Pathologie : 1- Brulures, 2- Ulcère gastrique, 3-Plaies, 4- Cicatrice, 5-Blessures

7- Partie utilisée : 1- Racine, 2-Tige , 3-Feuille, 4-fleurs/Inflorescences, 5- Fruit, 6-Graine, 7-Plante entière, 8- Huile, 9-Ecorce, 10-gel, 11-bulbe, 12-Partie aérienne, 13-Résine , 14- Miel.

8- Mode de préparation :1-Infusion, 2-Décoction, 3-Macération, 4-Fumigation, 5-Cataplasme, 6-Poudre

9- Mode d'administration :1- oral, 2- Application locale, 3-Inhalation, 4-rinçage, 5-Autres

10- Posologie : 1-Une fois par jour, 2- Deux fois/jour, 3- Trois fois /jour, 4- Quatre fois /jour

11- Toxicité : 1- Non, 2- Oui

Annexe 3 : Calcul du score utilisé lors de l'évaluation macroscopique de la cicatrisation

Lot	Jour	Paramètre	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6	Rat 7
G.1	3	Tuméfaction	0	0	0	0	0	0	0
		Surface	2	2	2	2	2	2	2
		Exsudat	0	0	0	0	0	0	0
		Rougeur	1	2	2	2	2	2	2
		Score	3	4	4	4	4	4	4
	5	Tuméfaction	0	0		1	1	1	1
		Surface	1	1		1	1	1	1
		Exsudat	0	0		1	0	1	1
		Rougeur	1	2		1	1	2	2
		Score	2	3		4	3	5	5
	7	Tuméfaction	0	0		0	1	1	1
		Surface	1	0		1	1	1	1
		Exsudat	0	0		0	0	0	0
		Rougeur	1	2		2	2	2	2
		Score	2	2		3	4	4	4
	9	Tuméfaction	0	0		0	0		0
		Surface	0	0		0	1		0
		Exsudat	0	1		0	1		0
		Rougeur	0	1		0	1		0
		Score	0	2		0	3		0
	11	Tuméfaction	0	0		0	0		0
		Surface	0	0		0	1		0
		Exsudat	0	0		0	0		0
		Rougeur	1	1		1	0		0
		Score	1	1		1	1		0
	13	Tuméfaction	0	0		0			
		Surface	0	0		0			
		Exsudat	0	0		0			
		Rougeur	0	0		0			
		Score	0	0		0			

	Jour	Paramètre	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6	Rat 7
G.2	**3**	Tuméfaction	0	0	0	0	0	0	0
		Surface	2	2	2	3	1	1	2
		Exsudat	0	0	0	0	0	1	0
		Rougeur	1	1	1	2	1	1	1
		Score	3	3	3	5	2	3	3
	5	Tuméfaction	0	0	0	0	0		0
		Surface	1	1	2	1	1		2
		Exsudat	0	0	1	0	0		0
		Rougeur	1	1	2	1	1		2
		Score	2	2	5	2	2		4
	7	Tuméfaction	0	0	0	0	0		0
		Surface	0	0	2	1	0		0
		Exsudat	1	0	0	0	1		2
		Rougeur	2	2	0	2	0		0
		Score	3	2	2	3	1		2
	9	Tuméfaction	0	0	0		0		0
		Surface	0	0	1		0		0
		Exsudat	0	0	0		0		0
		Rougeur	0	0	1		0		0
		Score	0	0	2		0		0
	11	Tuméfaction	0	0	0		0		0
		Surface	0	0	1		0		0
		Exsudat	0	0	0		0		0
		Rougeur	1	0	0		0		0
		Score	1	0	1		0		0
	13	Tuméfaction	0	0	0				0
		Surface	0	0	0				0
		Exsudat	0	0	0				0
		Rougeur	0	0	0				0
		Score	0	0	0				0

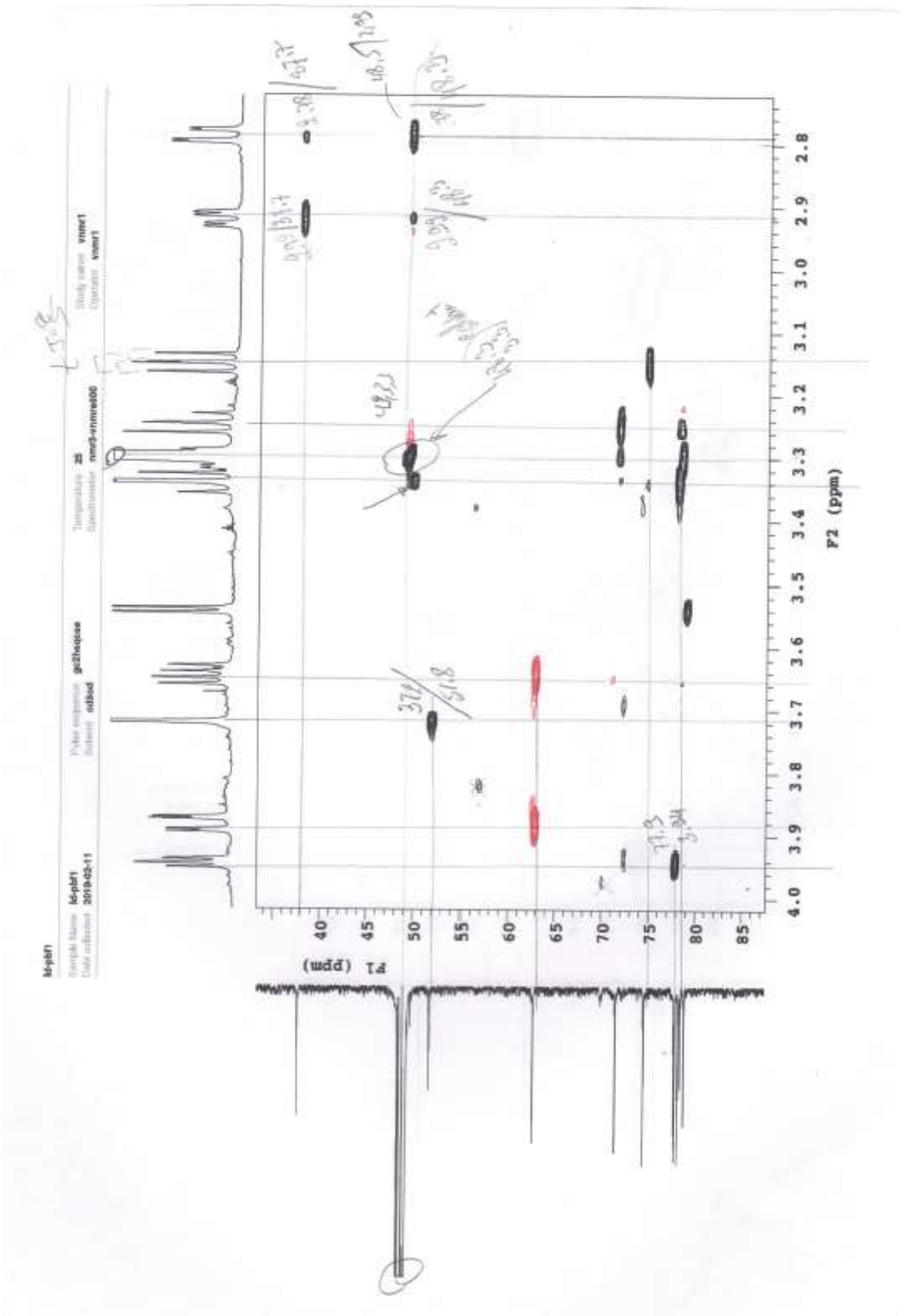
	Jour	Paramètre	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6	Rat 7
G.3	**3**	Tuméfaction	0	0	0	0	0	0	0
		Surface	2	2	2	2	2	3	2
		Exsudat	0	0	0	0	0	0	0
		Rougeur	1	2	1	1	1	2	1
		Score	3	4	3	3	3	5	3
	5	Tuméfaction	0	0	0	0		0	0
		Surface	1	1	1	1		2	1
		Exsudat	0	1	0	0		0	0
		Rougeur	1	1	1	1		1	1
		Score	2	3	2	2		3	2
	7	Tuméfaction	0	0	0	0		0	0
		Surface	0	0	0	1		0	1
		Exsudat	0	0	0	0		0	0
		Rougeur	0	2	2	1		0	2
		Score	0	2	2	2		0	3
	9	Tuméfaction	0	0	0	0		0	
		Surface	0	0	0	0		0	
		Exsudat	0	0	0	0		0	
		Rougeur	0	0	0	0		0	
		Score	0	0	0	0		0	
	11	Tuméfaction	0	0	0	0		0	
		Surface	0	0	0	0		0	
		Exsudat	0	0	0	0		0	
		Rougeur	0	0	0	0		0	
		Score	0	0	0	0		0	
	13	Tuméfaction	0	0	0			0	
		Surface	0	0	0			0	
		Exsudat	0	0	0			0	
		Rougeur	0	0	0			0	
		Score	0	0	0			0	

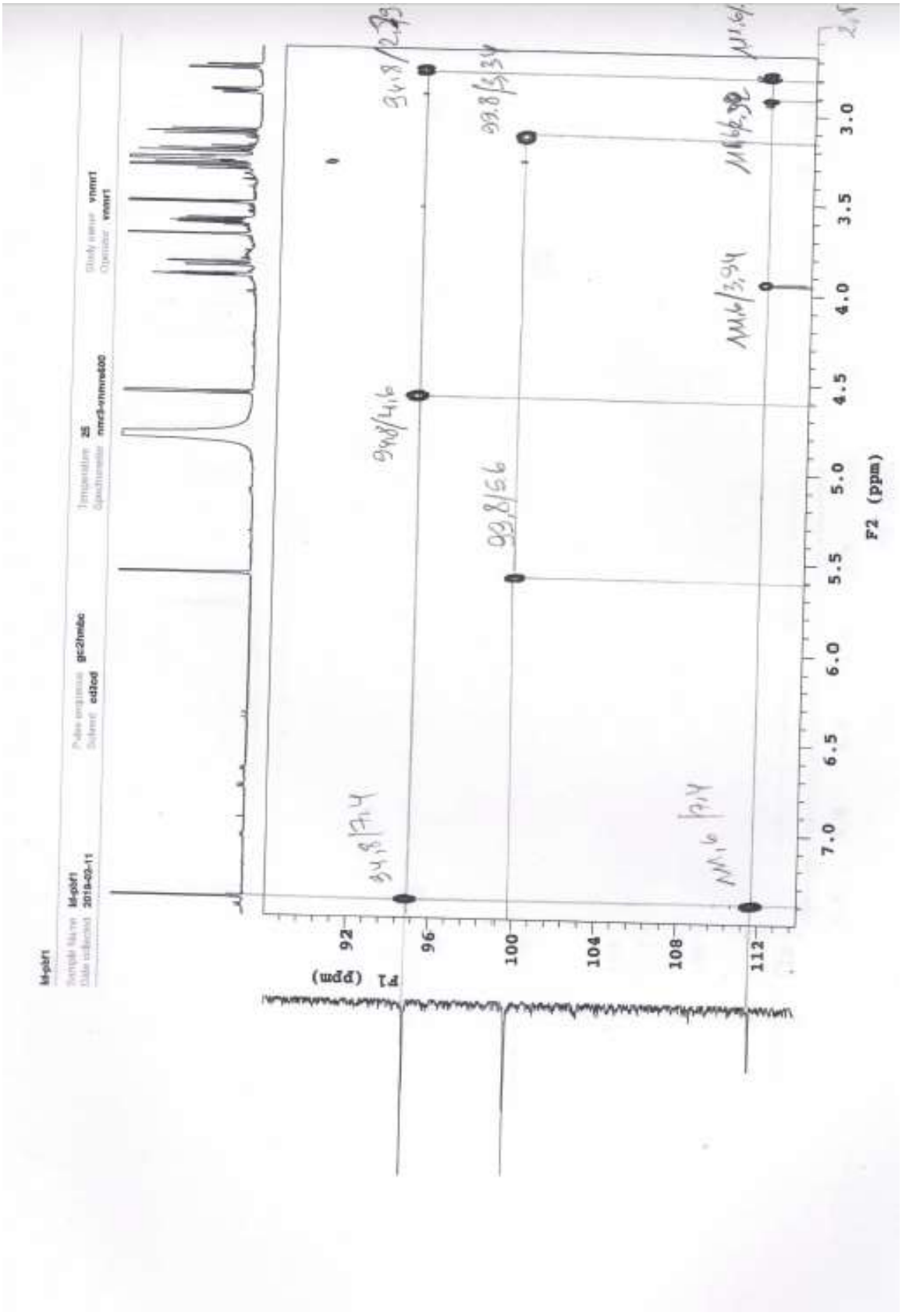
	Jour	Paramètre	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6	Rat 7
G.4	3	Tuméfaction	0	0	0	0	0	0	0
		Surface	2	2	1	2	2	2	2
		Exsudat	0	0	0	0	0	0	0
		Rougeur	1	1	2	2	1	1	1
		Score	3	3	3	4	3	3	3
	5	Tuméfaction	0	0	0	0	0		0
		Surface	1	1	0	1	1		1
		Exsudat	0	0	0	0	0		0
		Rougeur	1	2	1	2	1		1
		Score	2	3	1	3	2		2
	7	Tuméfaction	0	0	0	0	0		0
		Surface	0	0	0	0	1		1
		Exsudat	0	0	0	0	0		0
		Rougeur	1	2	1	2	1		0
		Score	1	2	1	2	2		1
	9	Tuméfaction	0	0	0	0	0		
		Surface	0	0	0	0	0		
		Exsudat	0	0	0	0	0		
		Rougeur	0	0	0	0	0		
		Score	0	0	0	0	0		
	11	Tuméfaction	0	0	0	0	0		
		Surface	0	0	0	0	0		
		Exsudat	0	0	0	0	0		
		Rougeur	0	0	0	0	0		
		Score	0	0	0	0	0		
	13	Tuméfaction	0	0	0	0			
		Surface	0	0	0	0			
		Exsudat	0	0	0	0			
		Rougeur	0	0	0	0			
		Score	0	0	0	0			

	Jour	Paramètre	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5	Rat 6	Rat 7
G.5	**3**	Tuméfaction	0	0	0	0	0	0	0
		Surface	2	2	2	1	2	2	2
		Exsudat	0	0	0	0	0	0	0
		Rougeur	1	1	1	1	1	1	1
		Score total	3	3	3	2	3	3	3
	5	Tuméfaction	0	0		0	0	0	0
		Surface	1	1		1	1	1	1
		Exsudat	0	0		1	0	0	1
		Rougeur	1	1		1	1	2	2
		Score	2	2		3	2	3	4
	7	Tuméfaction	0	0		0	0	0	0
		Surface	1	1		1	0	1	1
		Exsudat	0	0		0	0	0	0
		Rougeur	2	0		0	1	2	2
		Score	3	1		1	1	3	3
	9	Tuméfaction	0	0		0	0		0
		Surface	0	0		0	0		0
		Exsudat	0	0		0	0		0
		Rougeur	0	0		0	0		0
		Score	0	0		0	0		0
	11	Tuméfaction	0	0		0	0		0
		Surface	0	0		0	0		0
		Exsudat	0	0		0	0		0
		Rougeur	0	0		0	0		0
		Score	0	0		0	0		0
	13	Tuméfaction							
		Surface							
		Exsudat							
		Rougeur							
		Score							

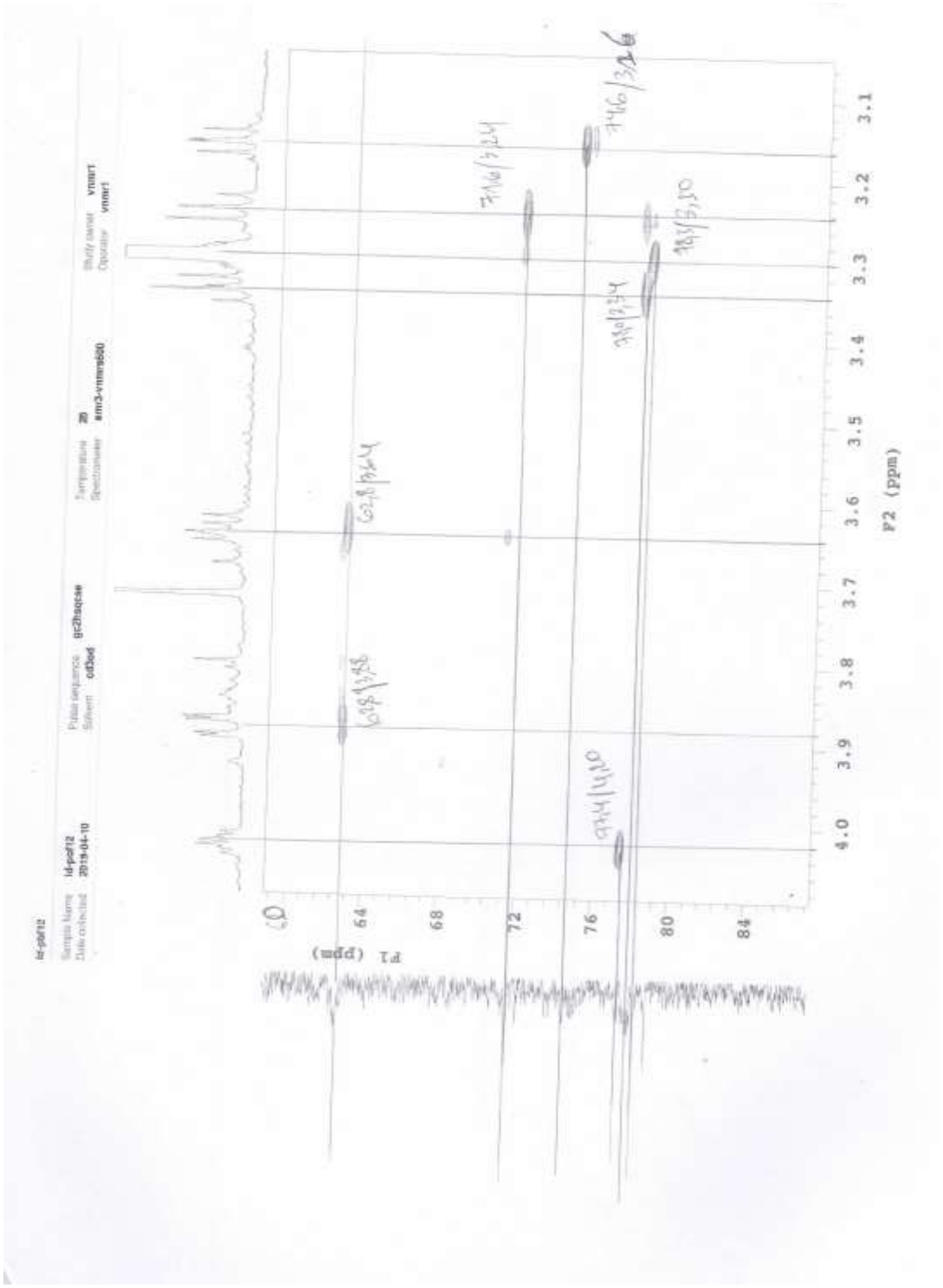
Annexe 4 : Spectres RMN des composés isolés

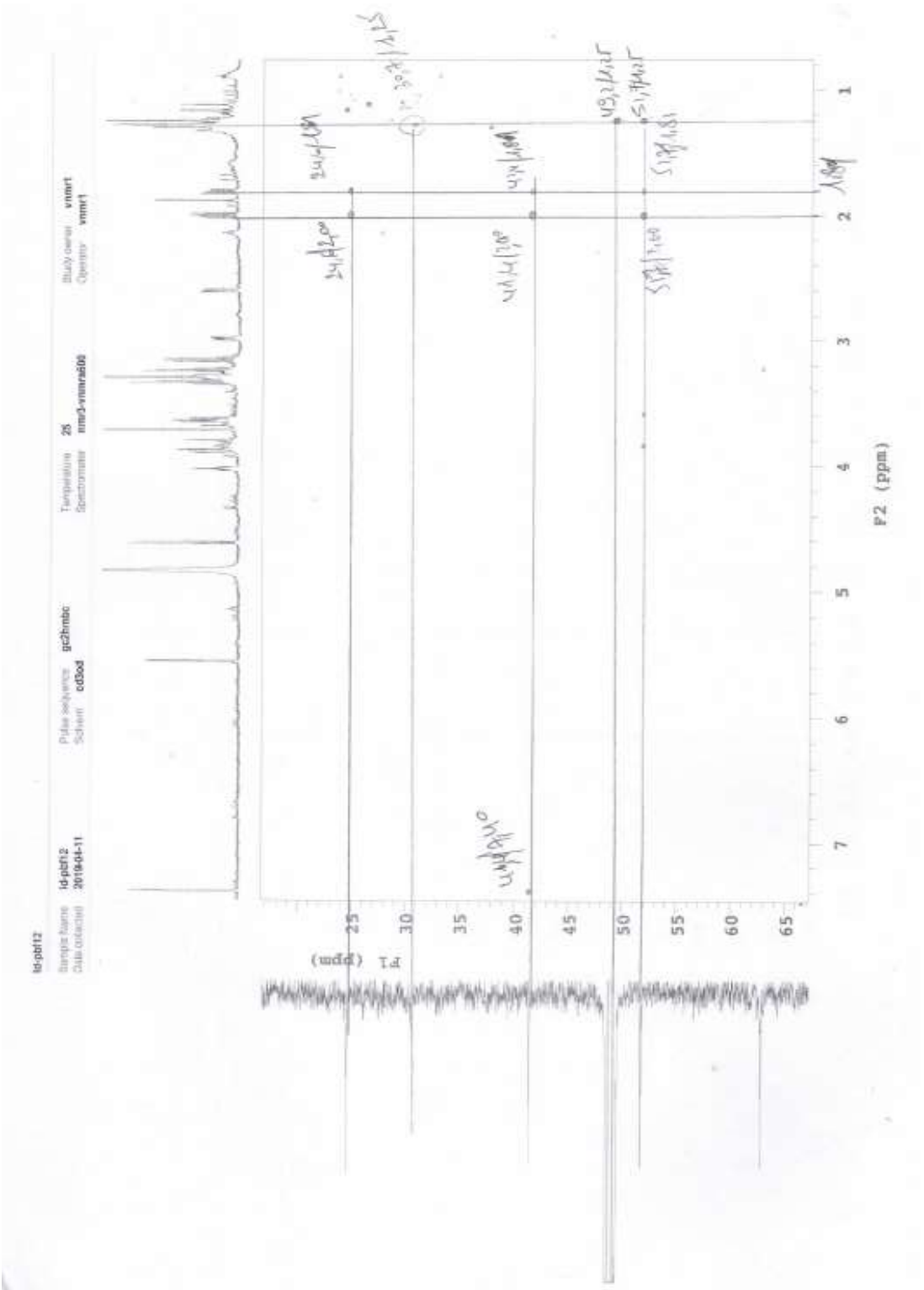
Spectres RMN du composé 1


F2 (ppm)
F1 (ppm)

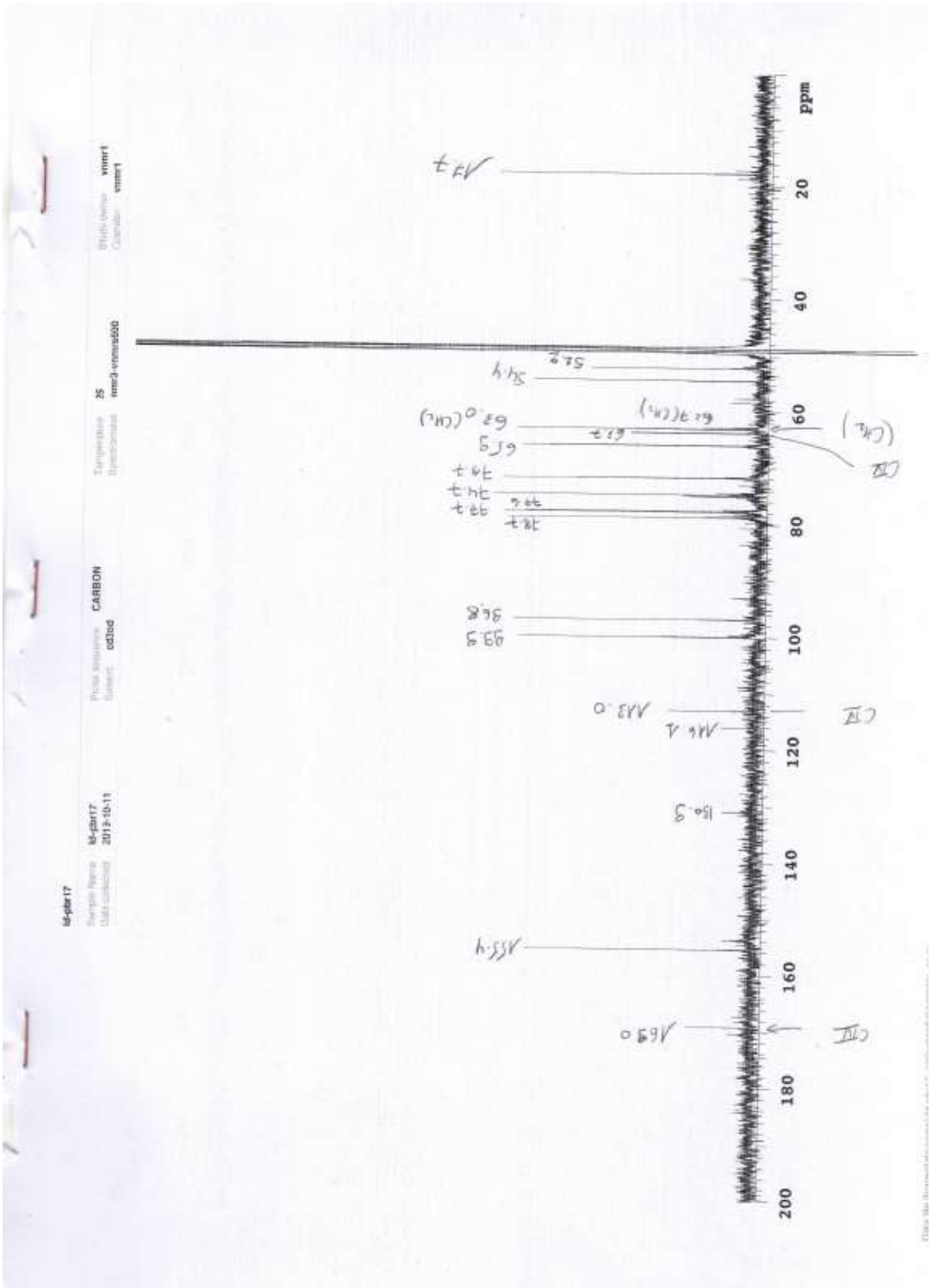

F2 (ppm)
F1 (ppm)

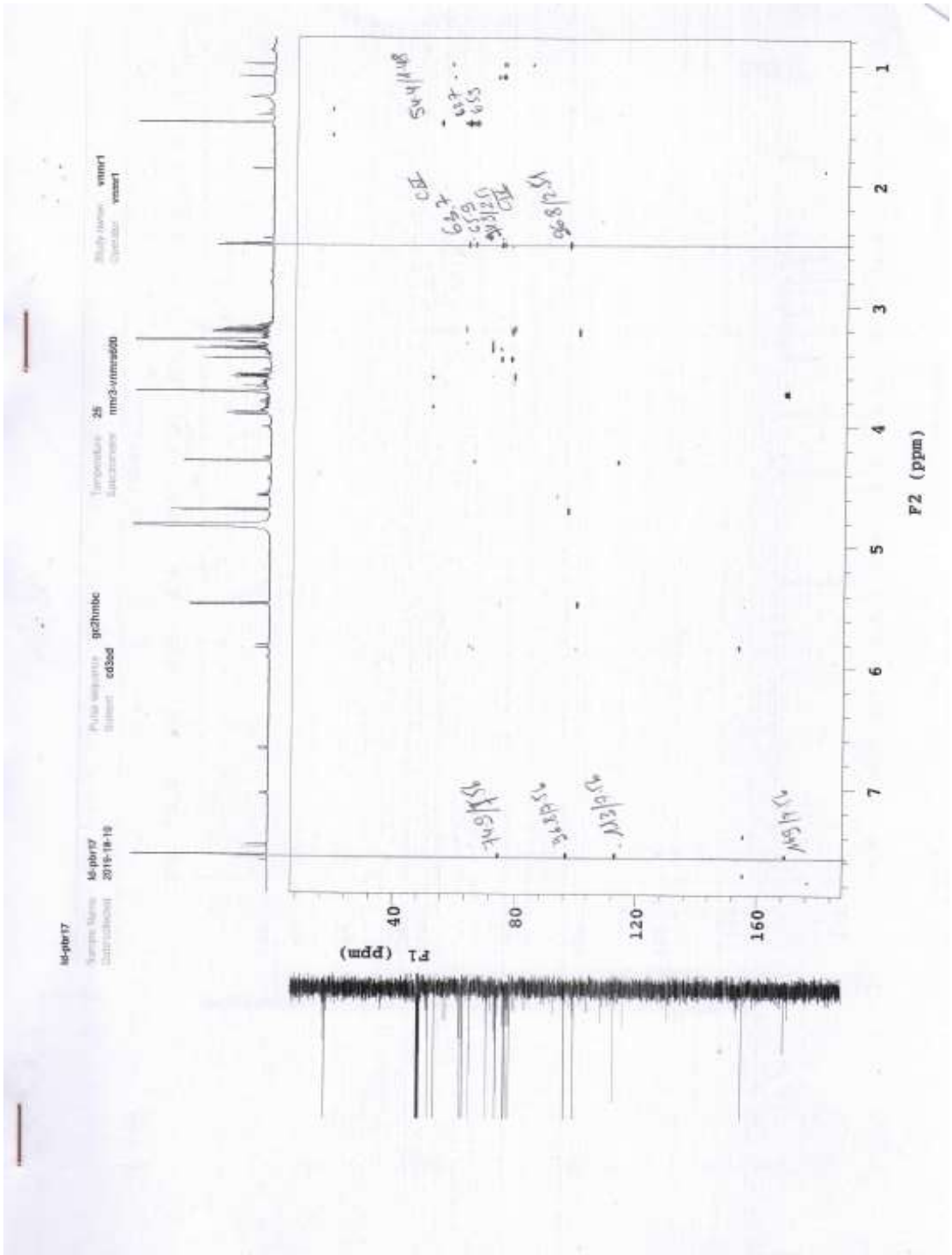
Spectres RMN du composé 2


id-pol12
Sample name id-pol12
Date collected 2019-04-10
Pulse sequence s2pqcse
Solvent cdcl3
Temperature 25
Spectrometer ams-vnmrs600
Study owner vnmrl
Operator vnmrl
P1 (ppm)
P2 (ppm)

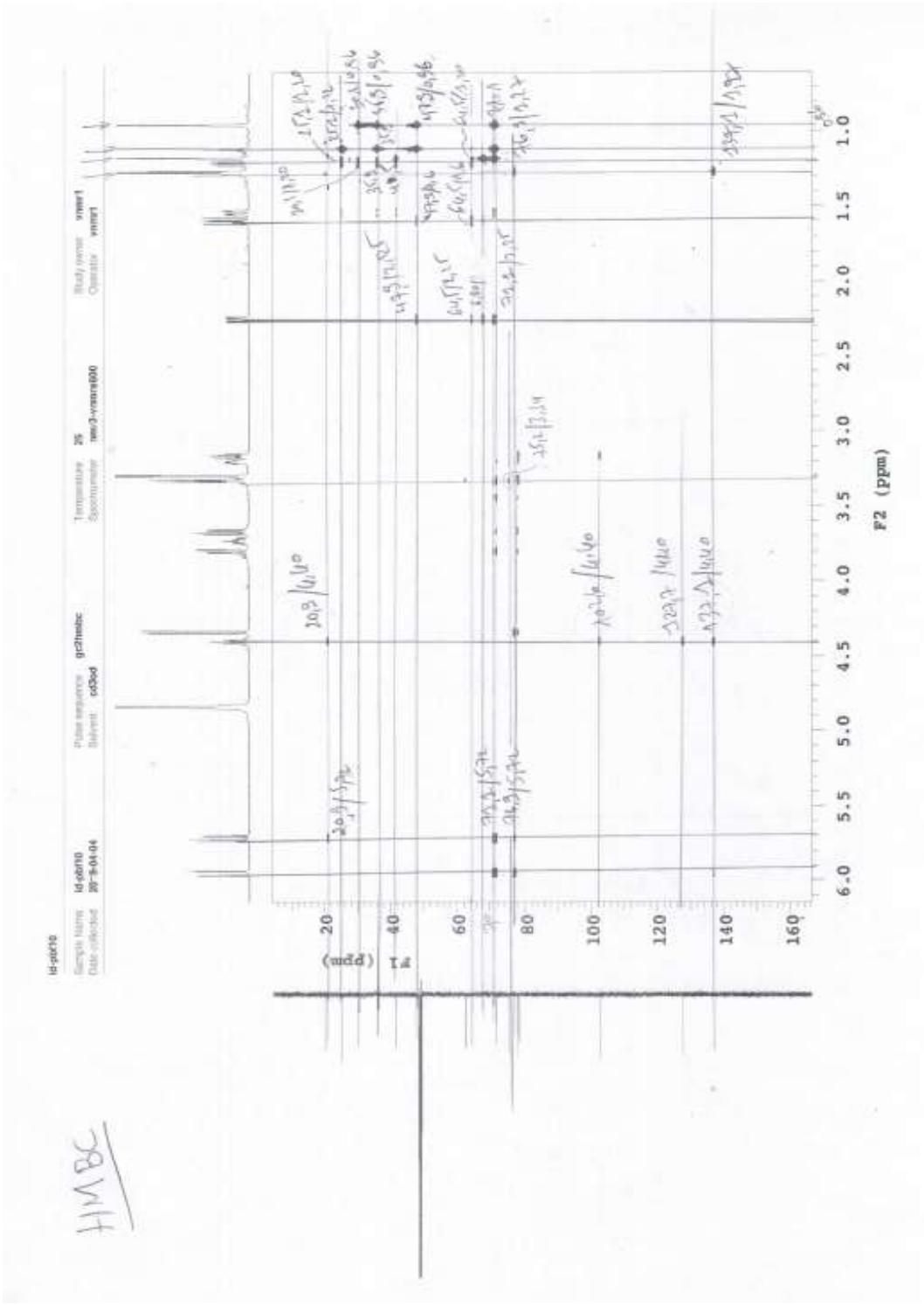

F2 (ppm)
F1 (ppm)

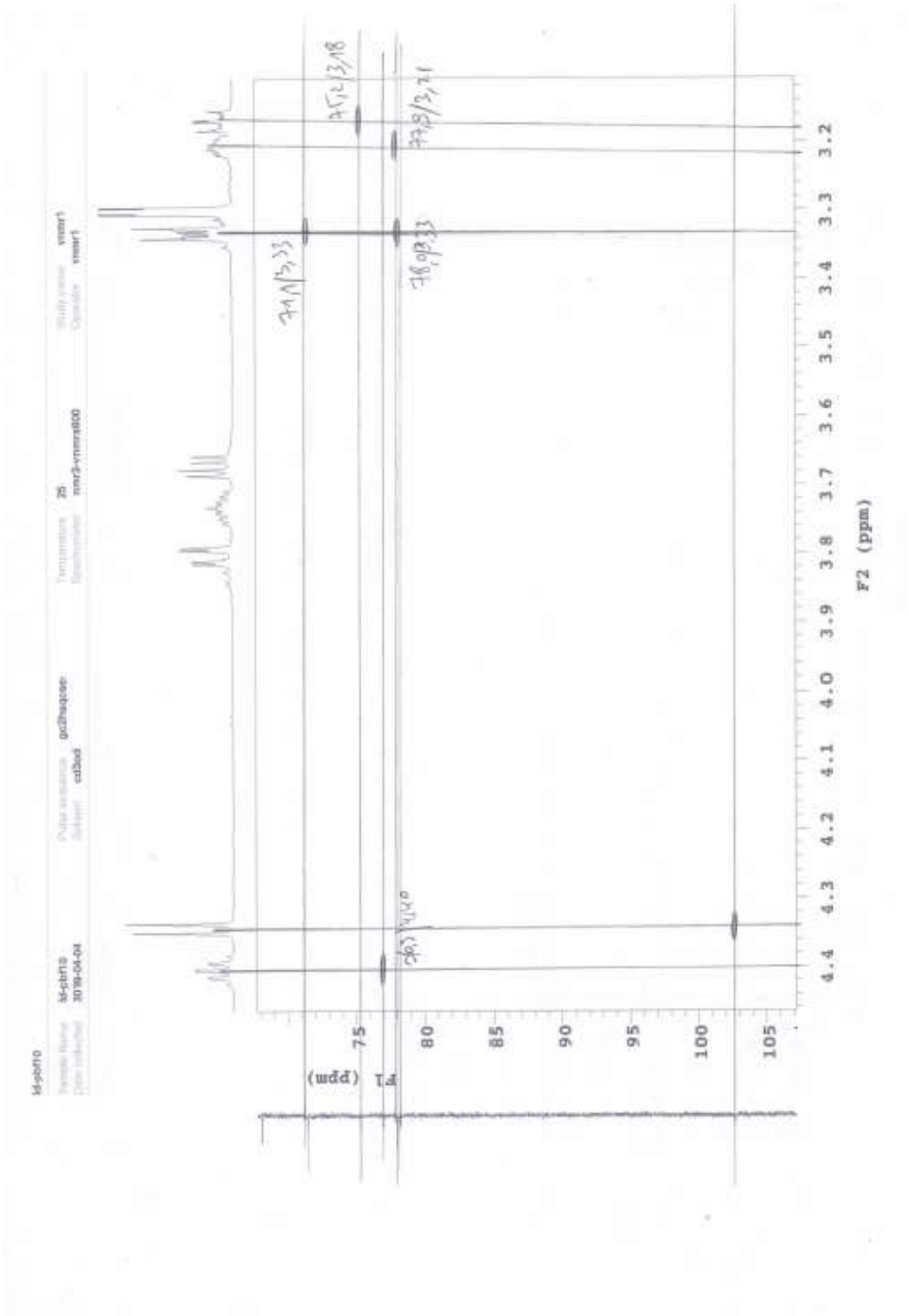
Spectres RMN du composé 3


ppm
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
CDCl3
CDCl3
CDCl3

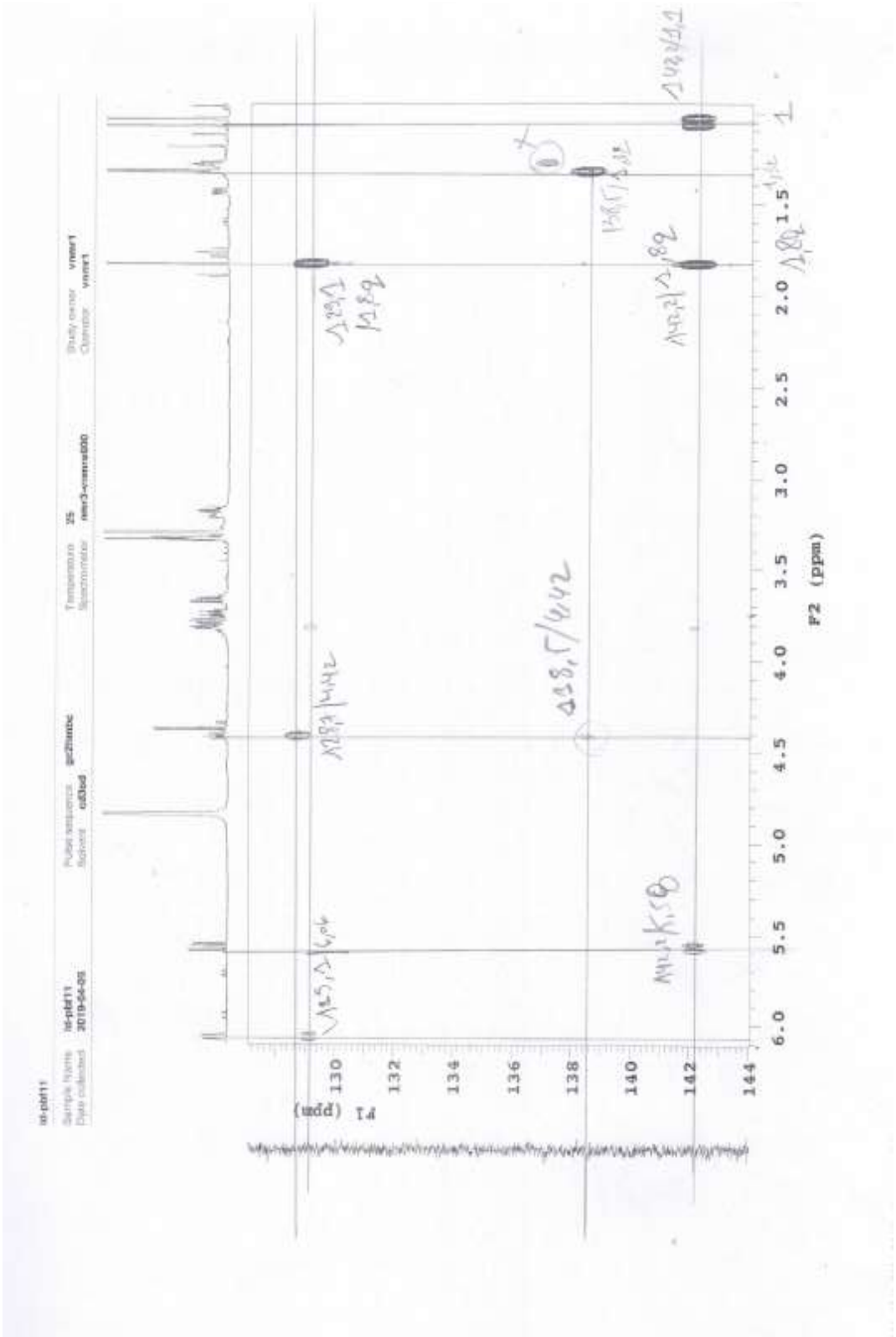

F2 (ppm)
F1 (ppm)

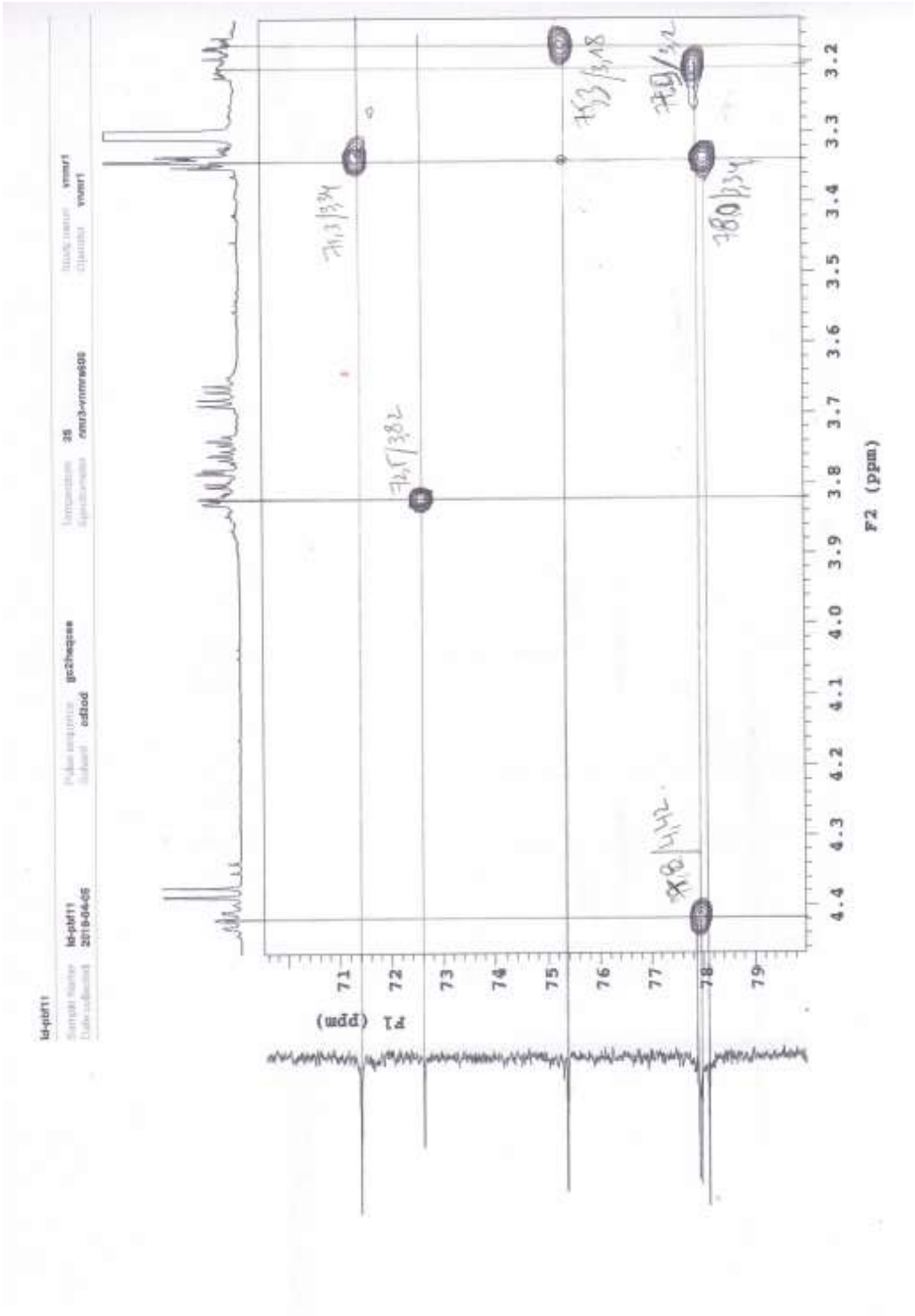
Spectres RMN du composé 4


F2 (ppm)
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
(ppm)
20
40
60
80
100
120
140
160

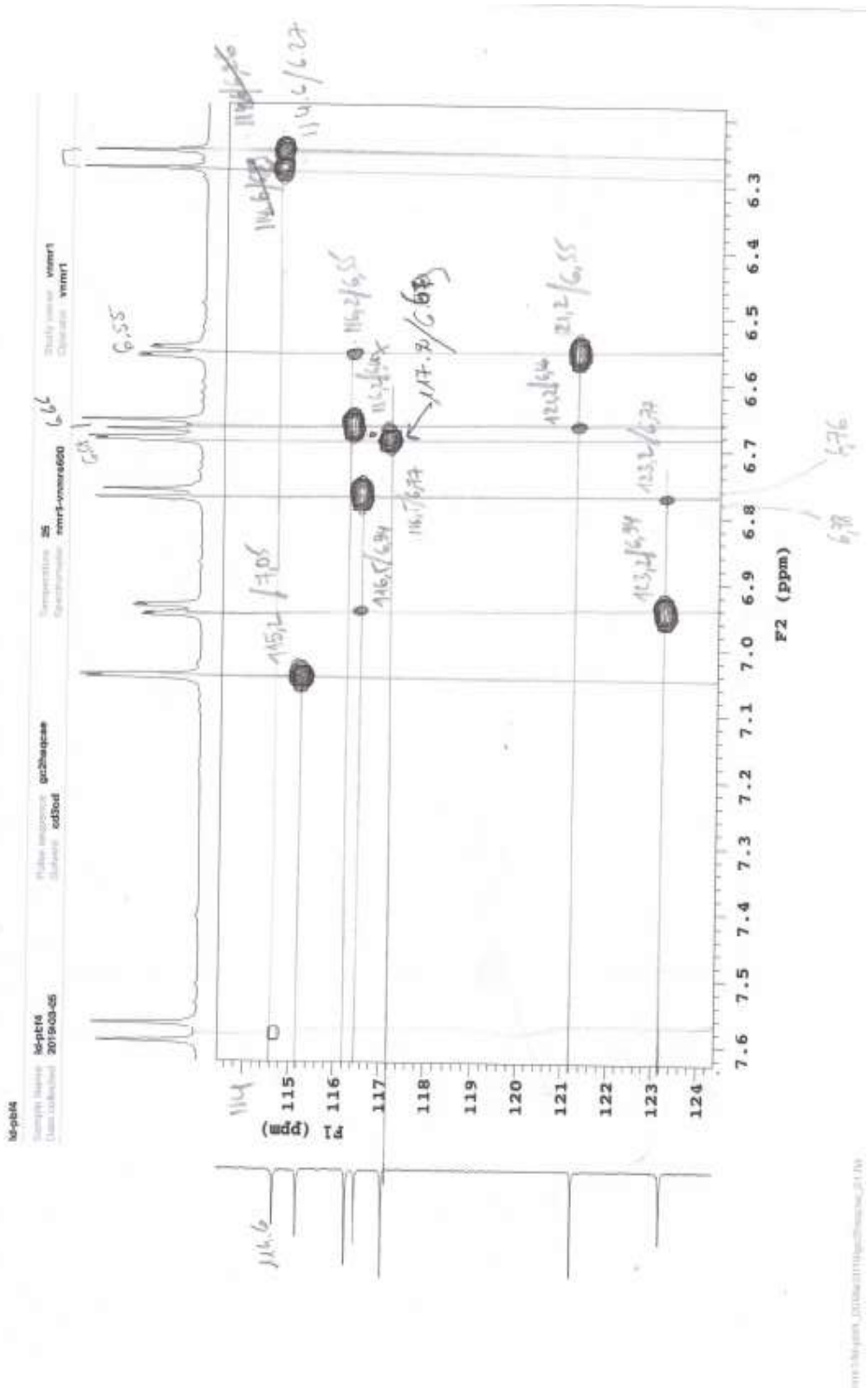

F2 (ppm)
3.2
3.3
3.4
3.5
3.6
3.7
3.8
3.9
4.0
4.1
4.2
4.3
4.4
F1 (ppm)
75
80
85
90
95
100
105

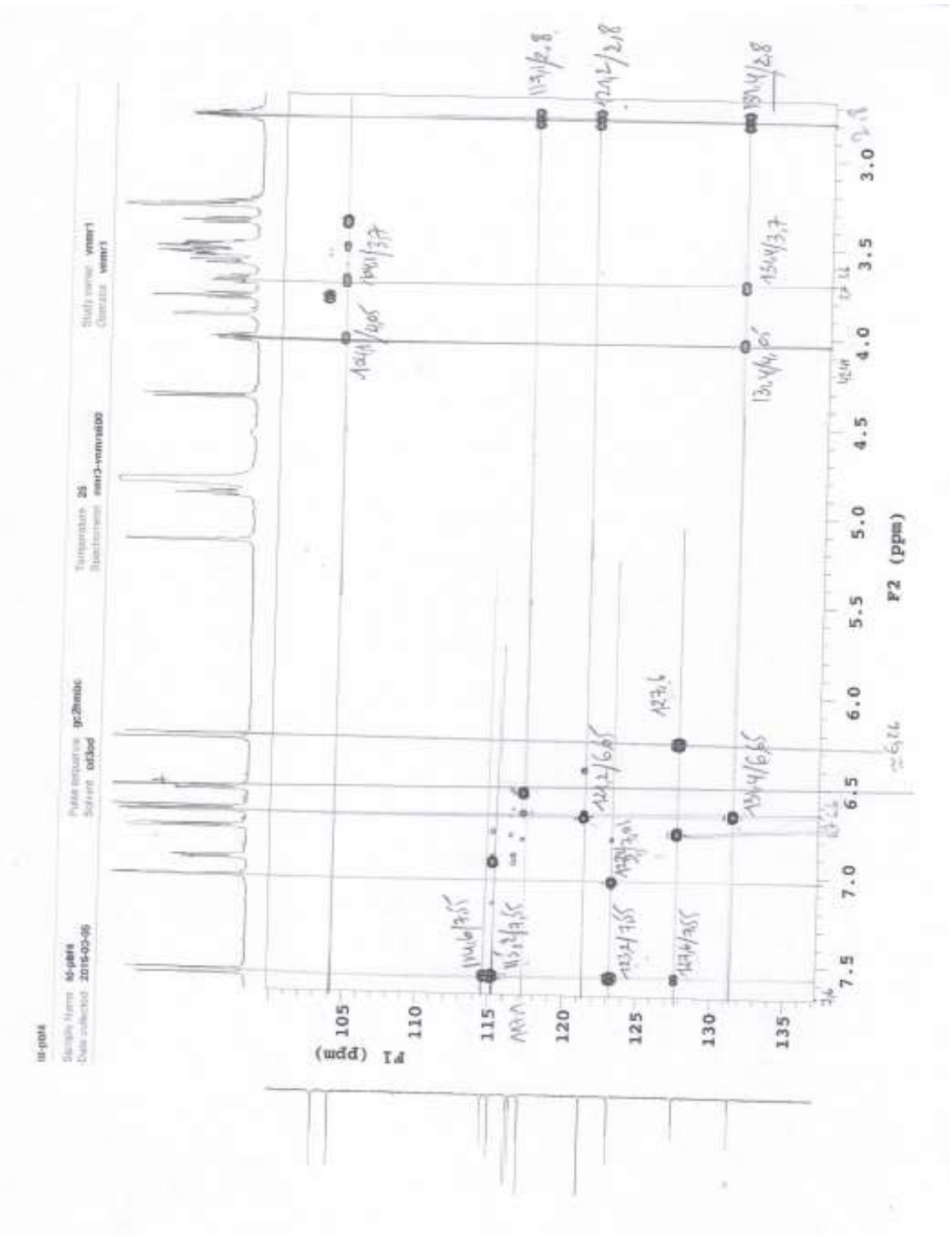
Spectres RMN du composé 5


int-pbl11
Sample name int-pbl11
Date collected 2019-04-05
Pulse sequence cd3sd
Solvent
gc2hsmbc
Temperature 25
Spectrometer nmr3-vnmrs600
Study owner vnmr1
Operator vnmr1
F2 (ppm)
F1 (ppm)

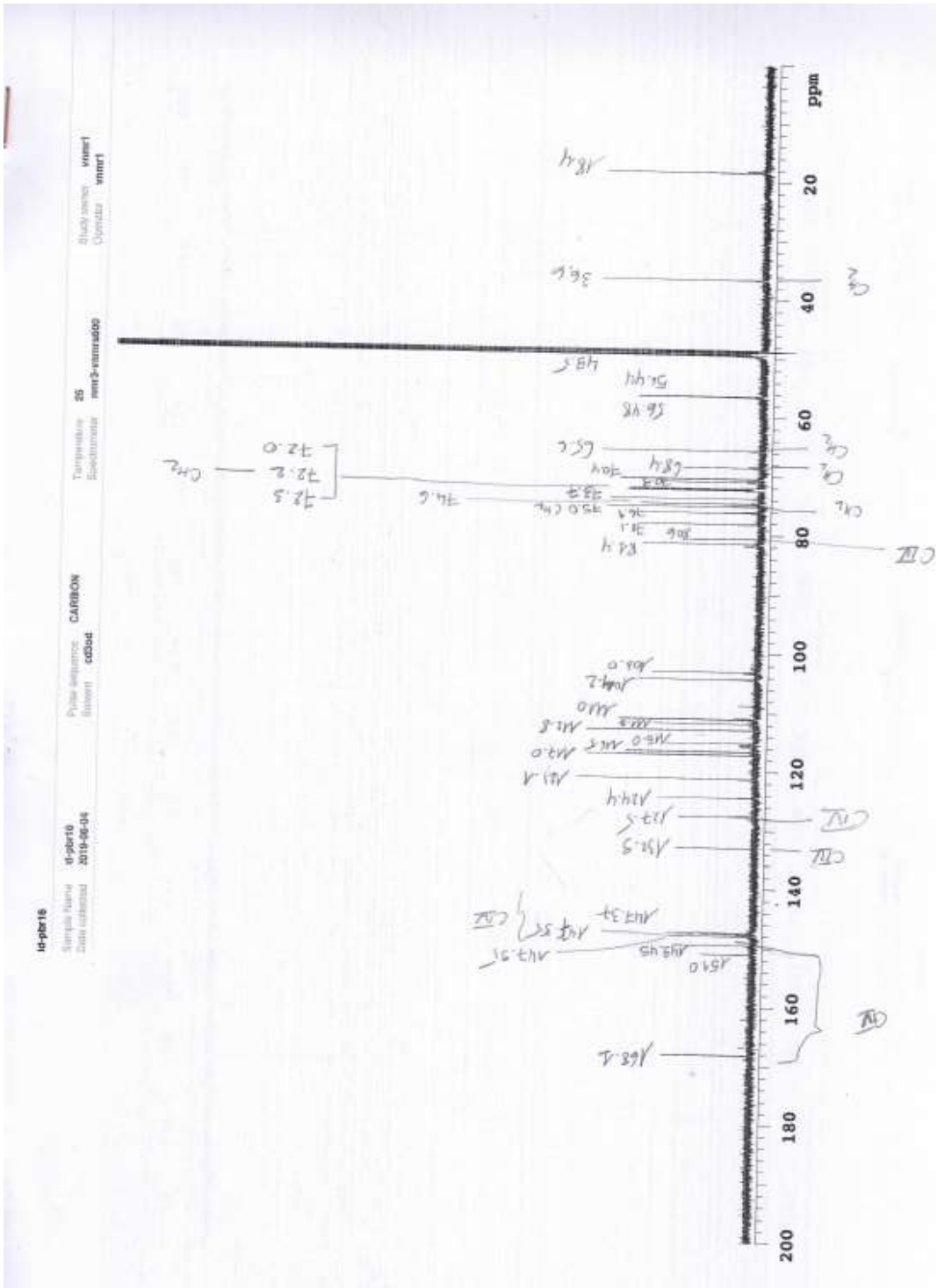

F1 (ppm)
F2 (ppm)

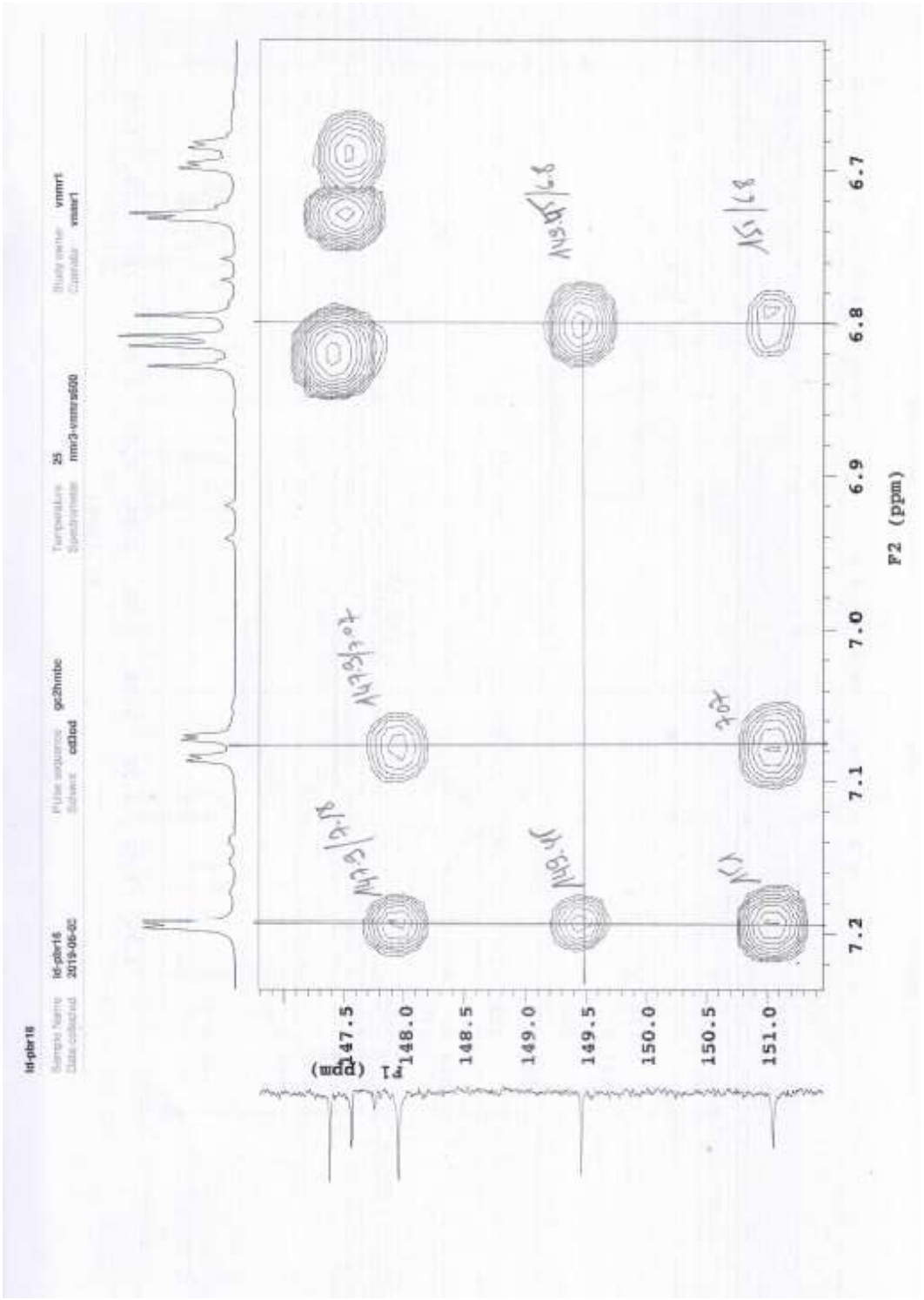
Spectres RMN du composé 6


F2 (ppm)
F1 (ppm)

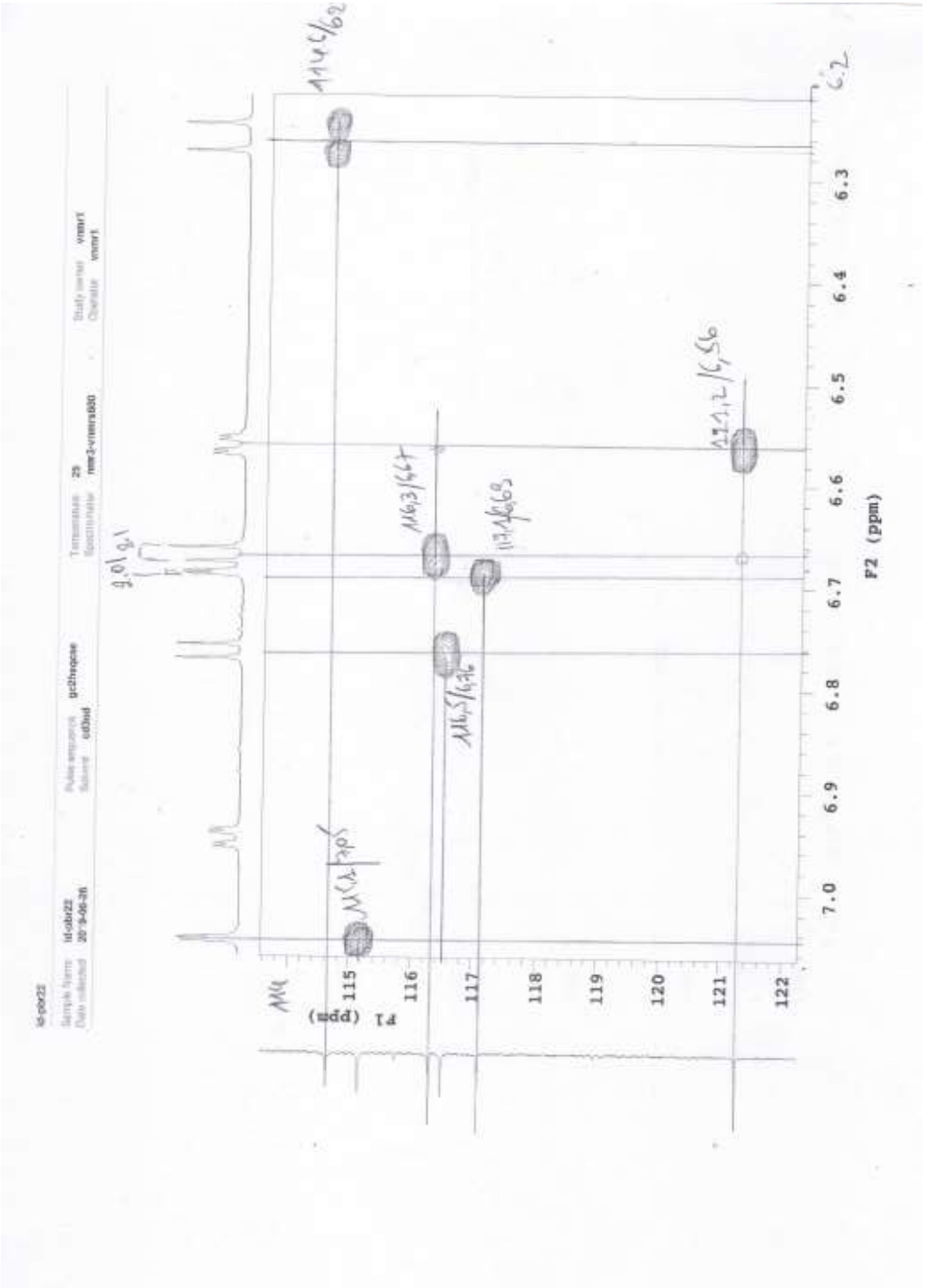

F1 (ppm)
F2 (ppm)

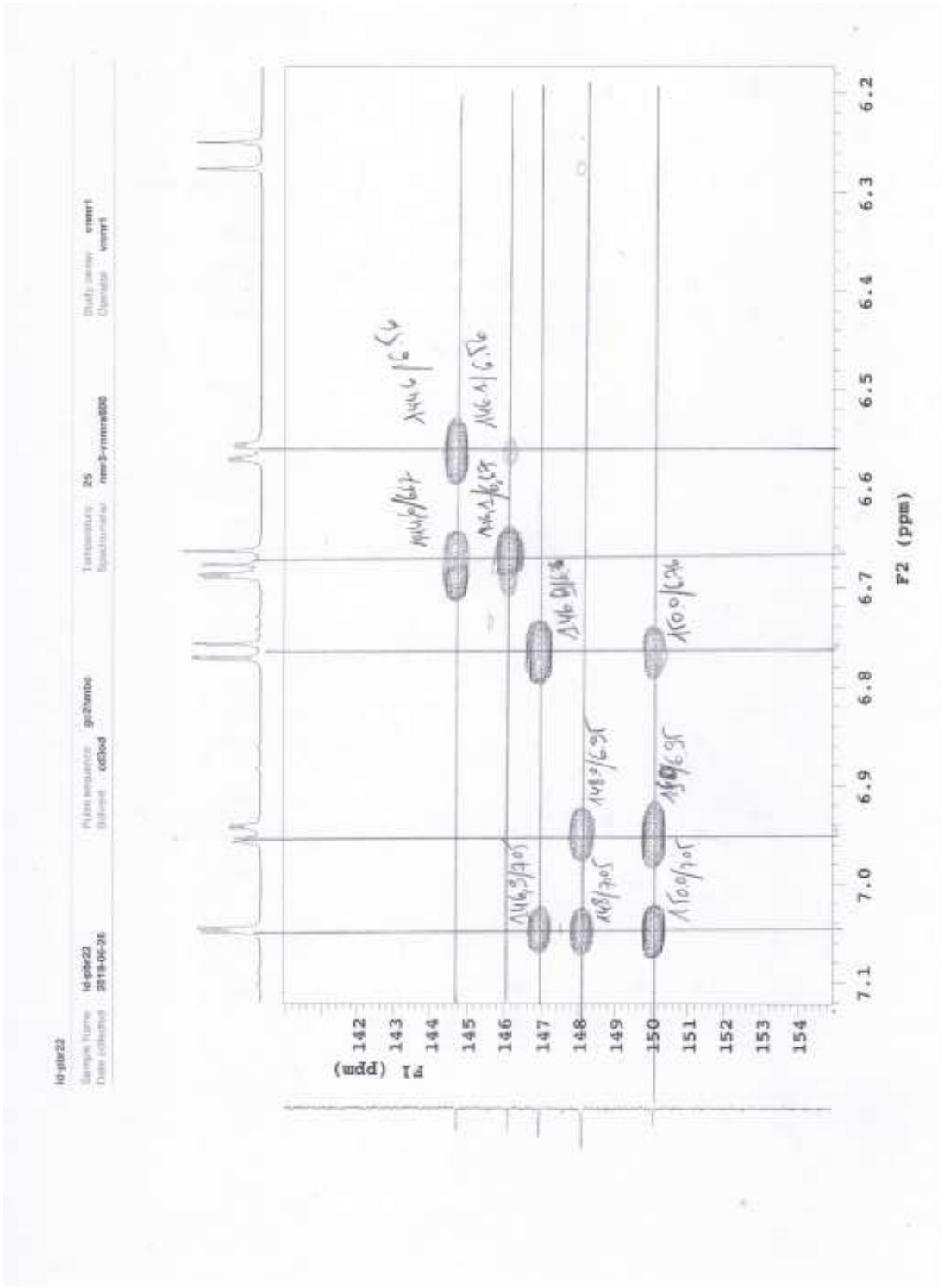
Spectres RMN du composé 7


ppm
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200

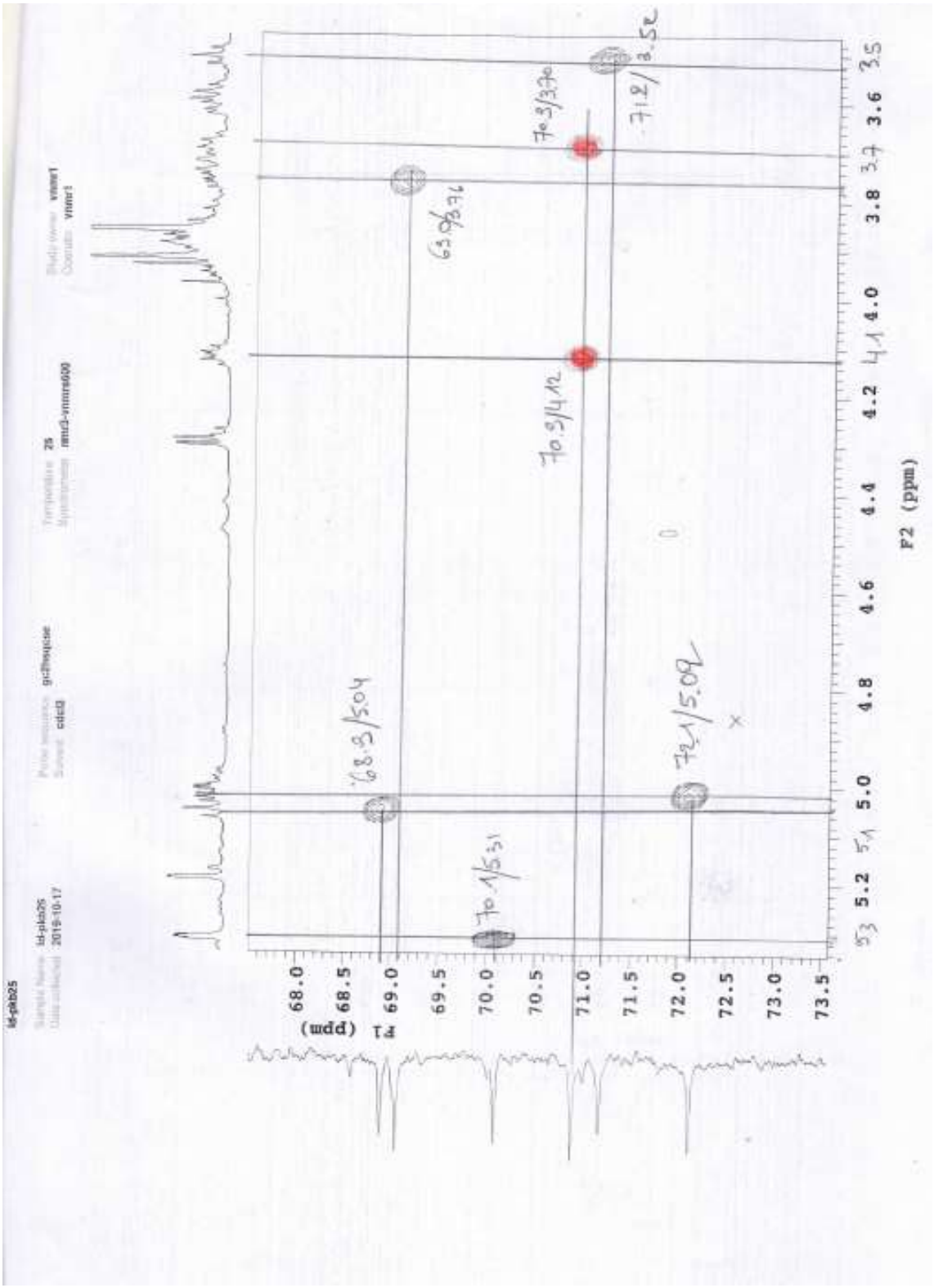

F2 (ppm)
F1 (ppm)

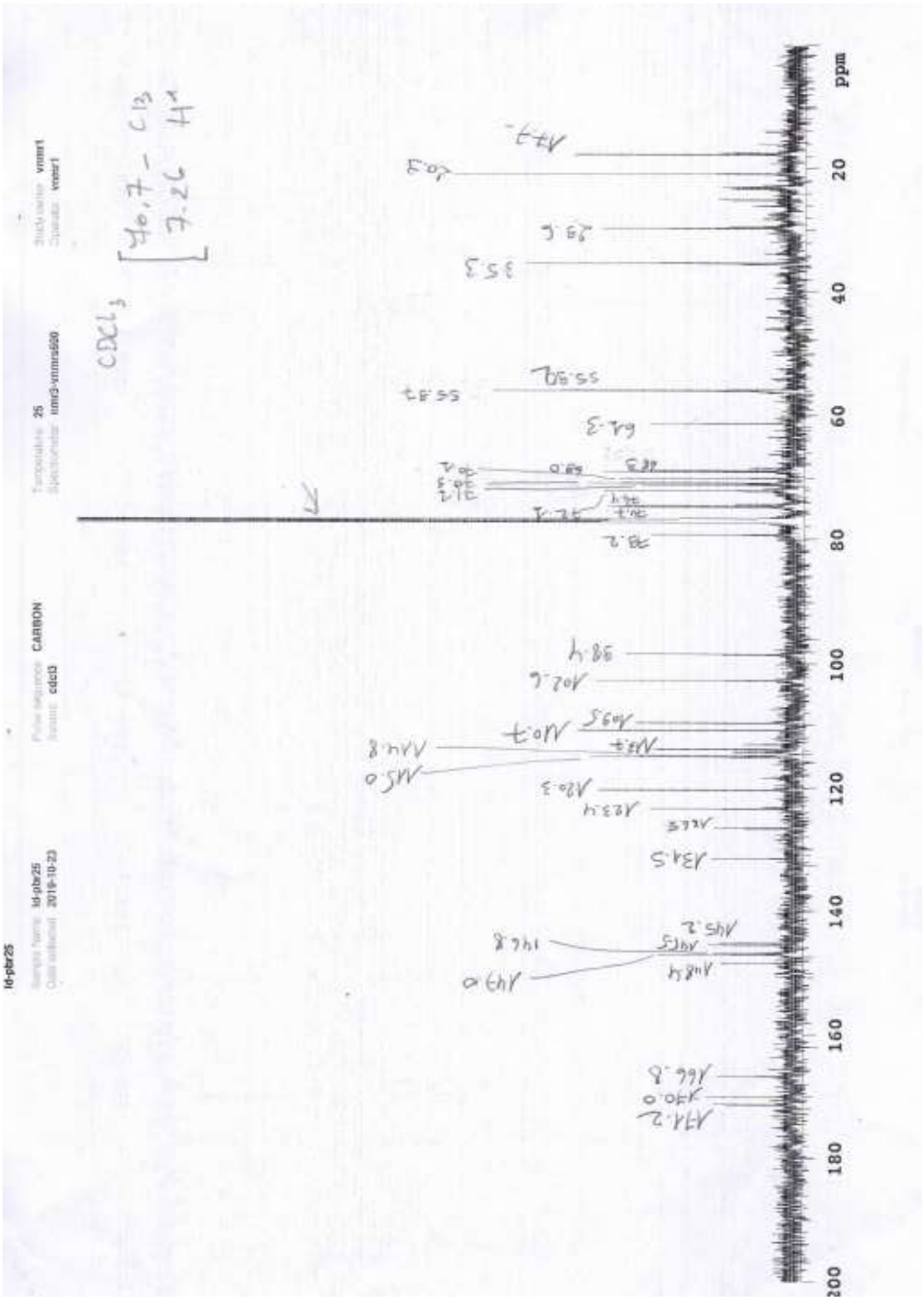
Spectres RMN du composé 8


F2 (ppm)
F1 (ppm)

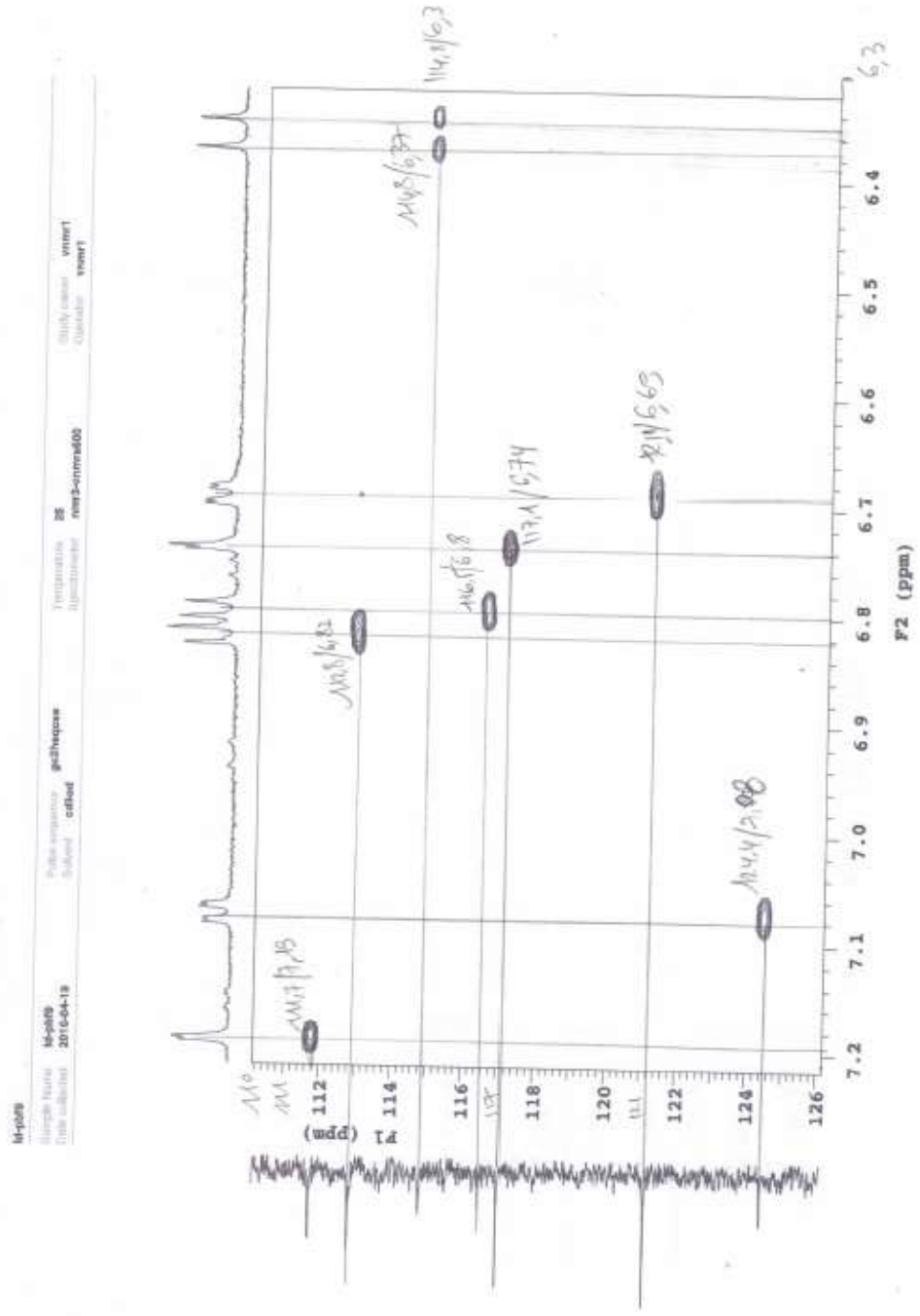

F2 (ppm)
F1 (ppm)

Spectres RMN du composé 9

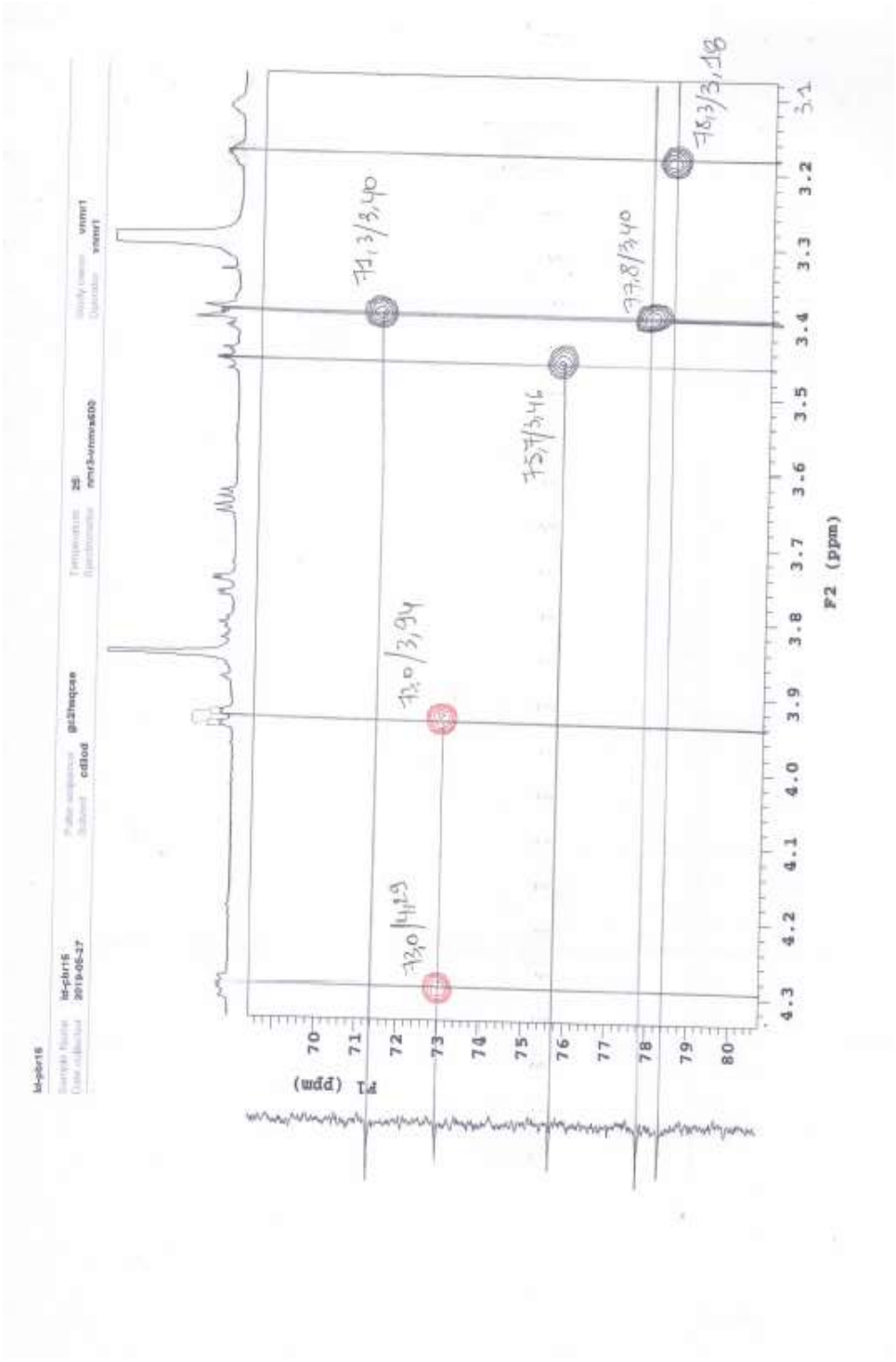

id-pkb25
F1 (ppm)
F2 (ppm)
68.0
68.5
69.0
69.5
70.0
70.5
71.0
71.5
72.0
72.5
73.0
73.5
5.2
5.1
5.0
4.8
4.6
4.4
4.2
4.0
3.8
3.7
3.6
3.5

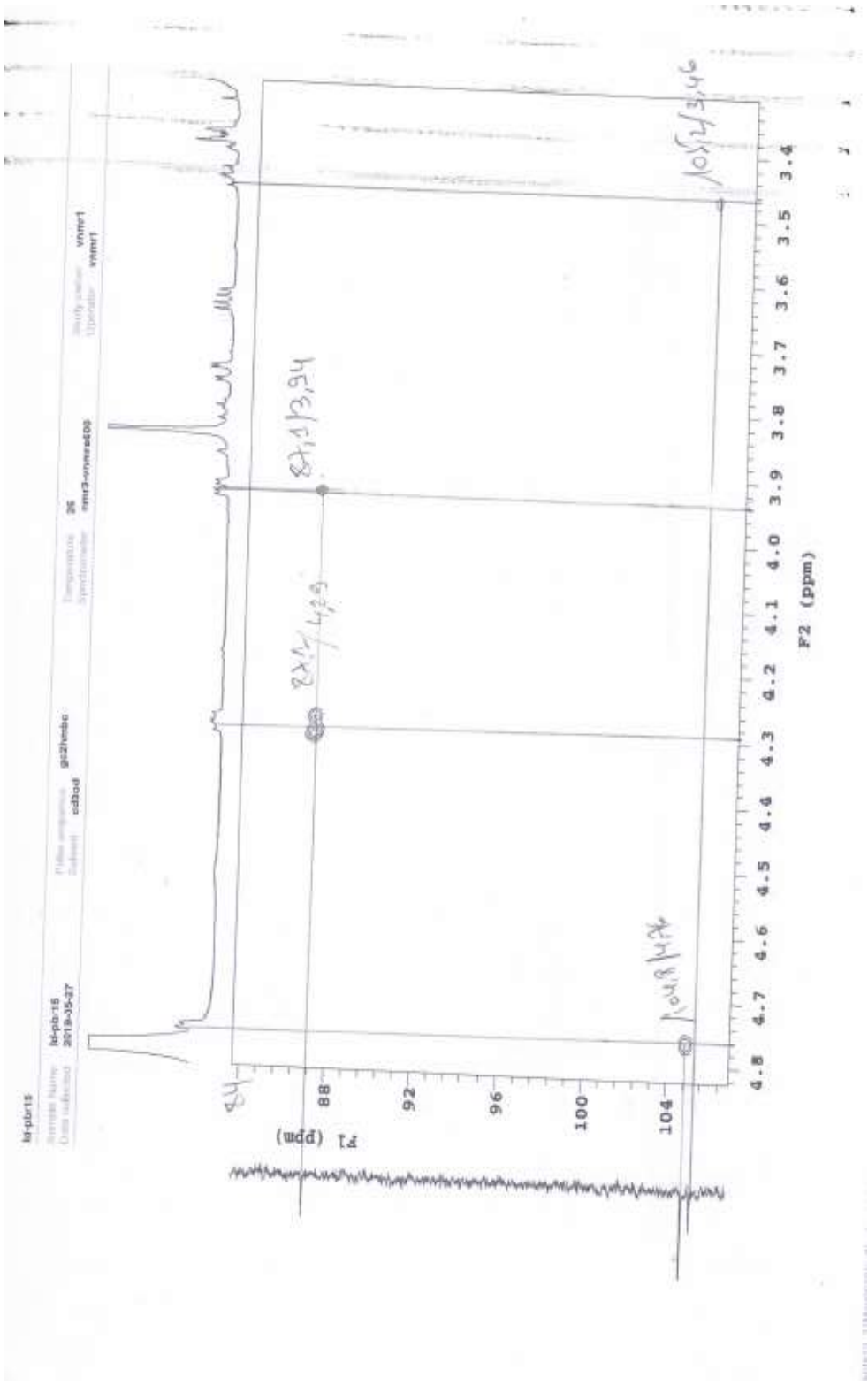

ppm
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
CDCl3
40,7 - C13
7.26 H1
Id-pbr25
CARBON
cdcl3
2016-10-23

Spectres RMN du composé 10

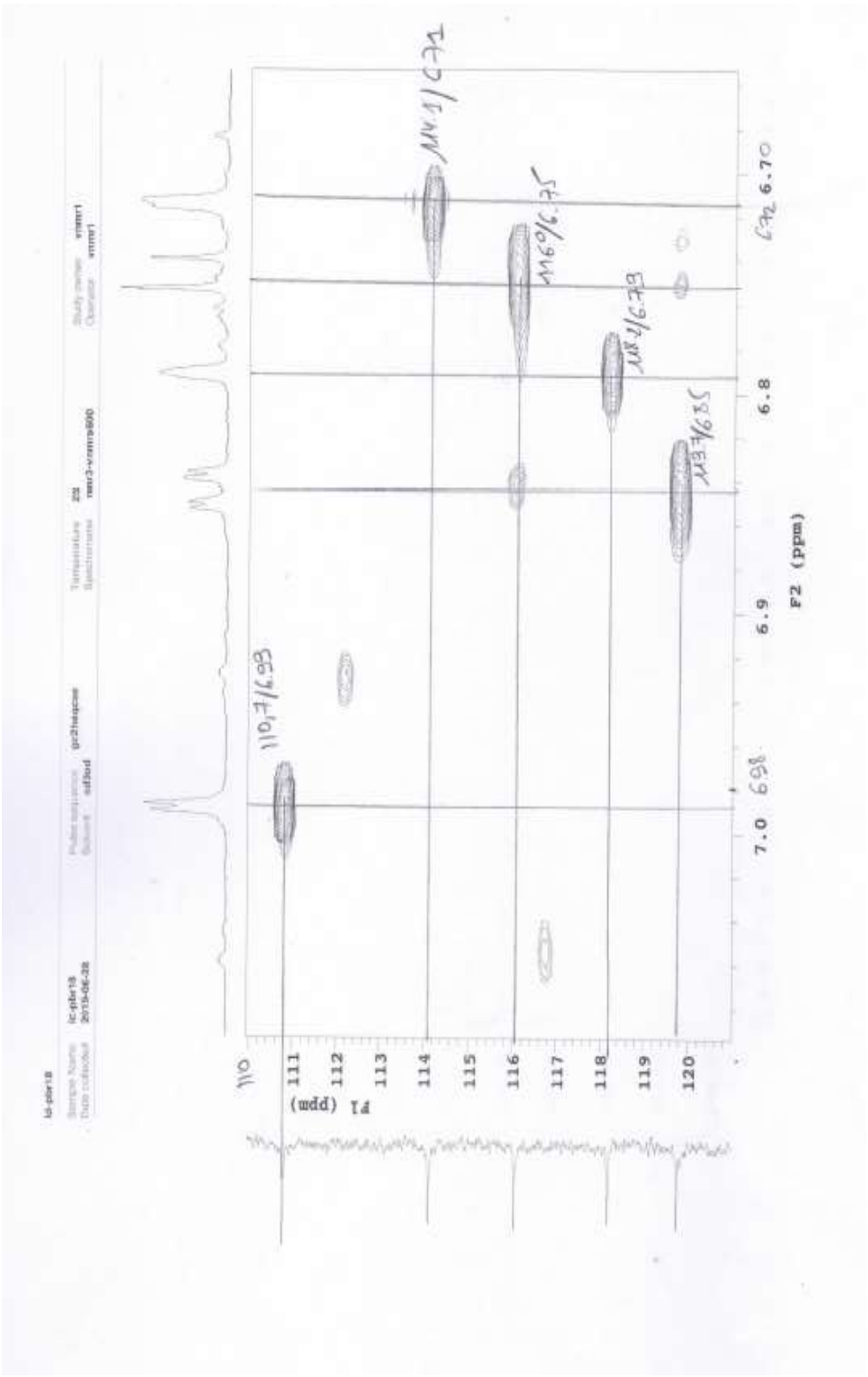

F1 (ppm)
F2 (ppm)

Spectres RMN du composé 11

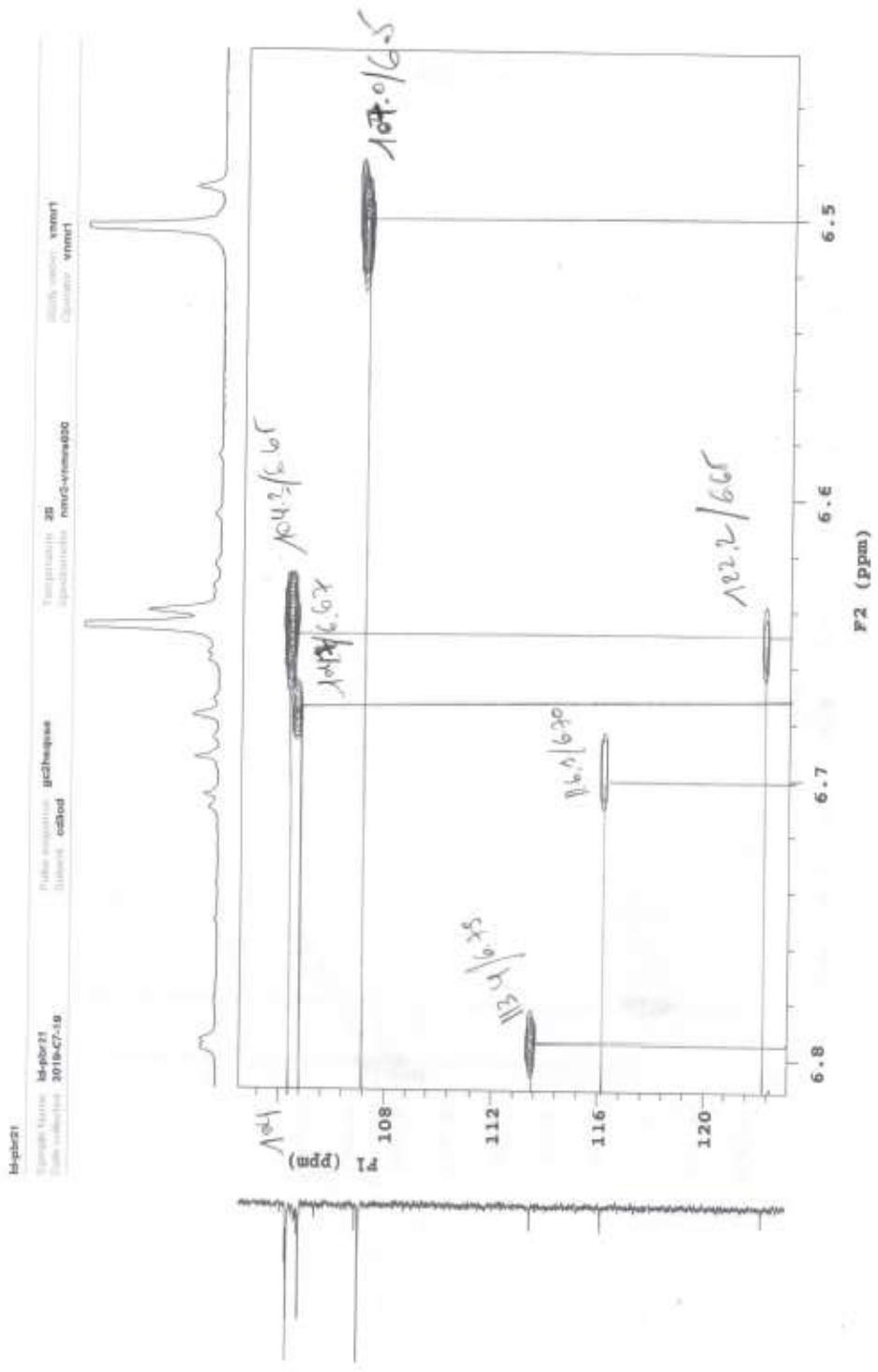

F2 (ppm)
F1 (ppm)
71,3/3,40
73,8/3,40
73,7/3,46
73,0/3,94
73,0/4,19
78,3/3,18

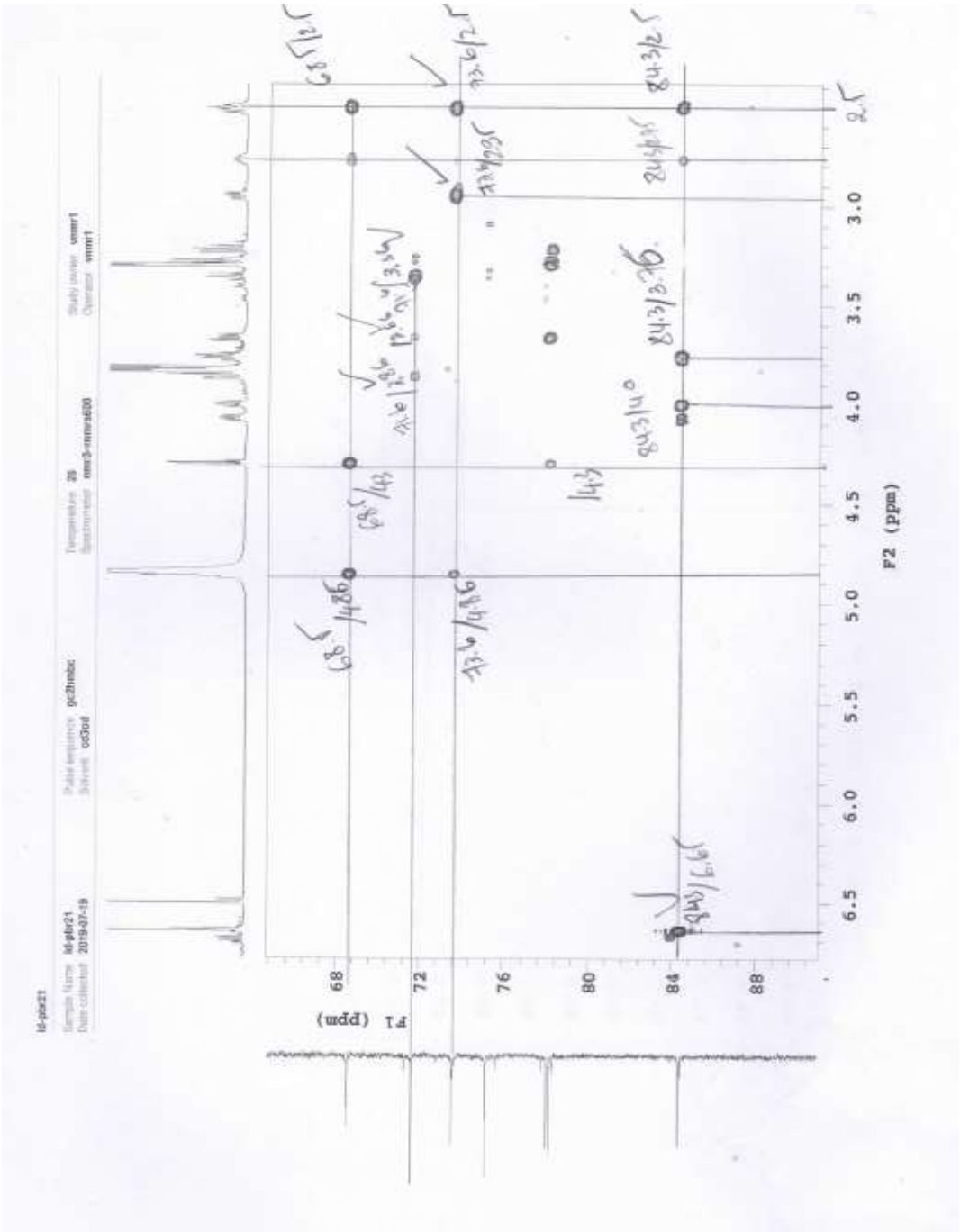

F2 (ppm)
F1 (ppm)

Spectres RMN du composé 12

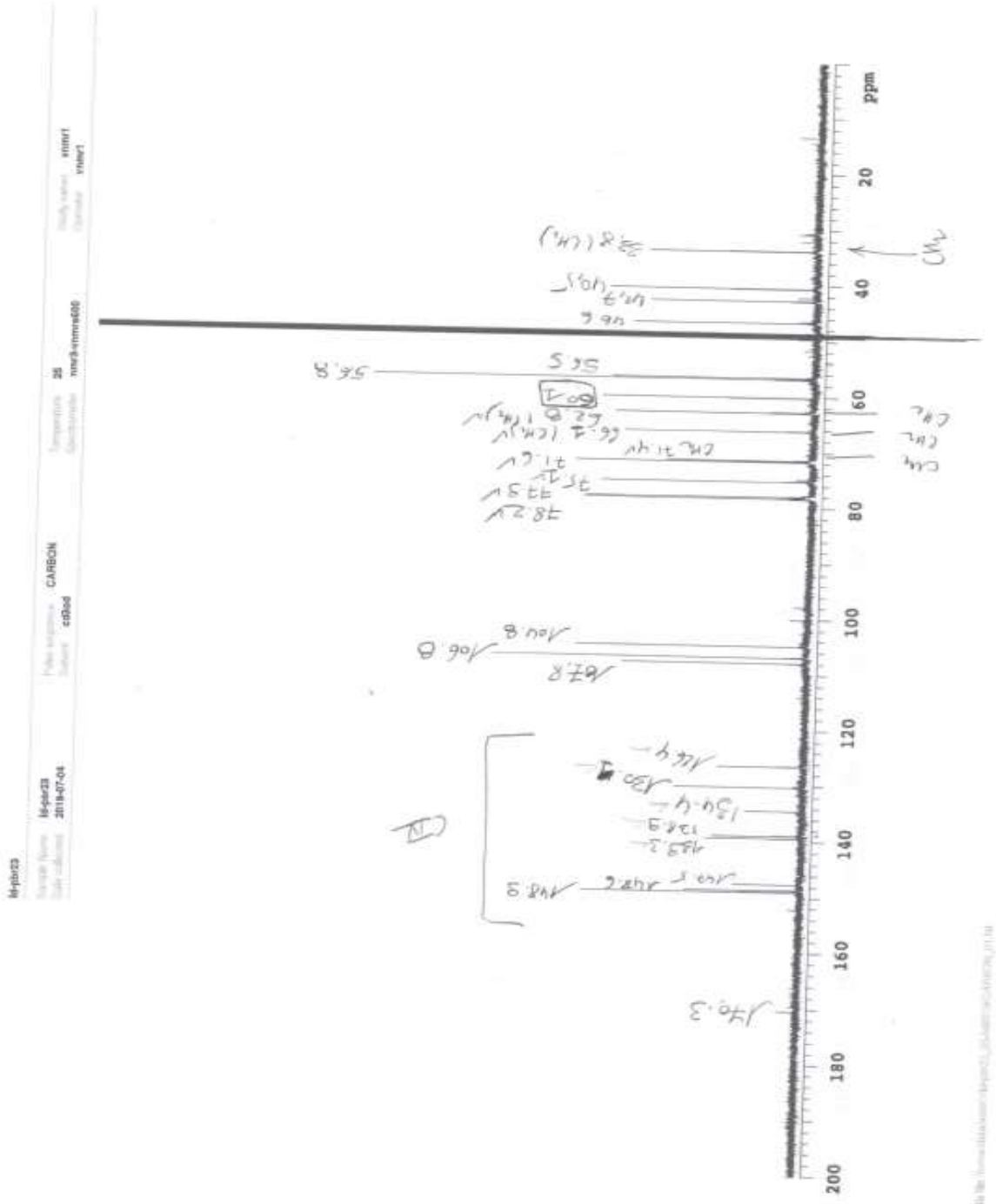

F2 (ppm)
F1 (ppm)

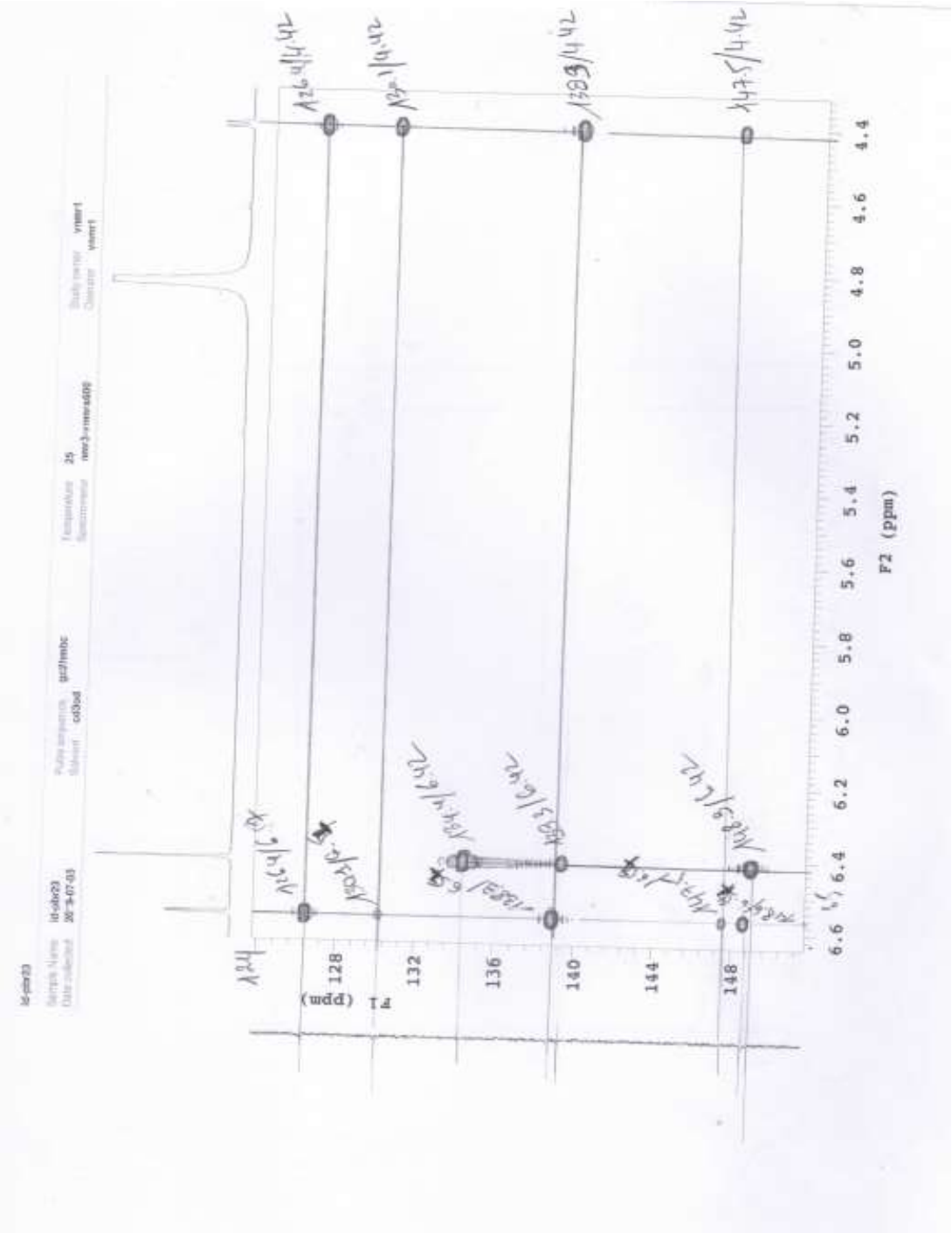
Spectres RMN du composé 13


F2 (ppm)
6.5
6.6
6.7
6.8
F1 (ppm)
104
108
112
116
120

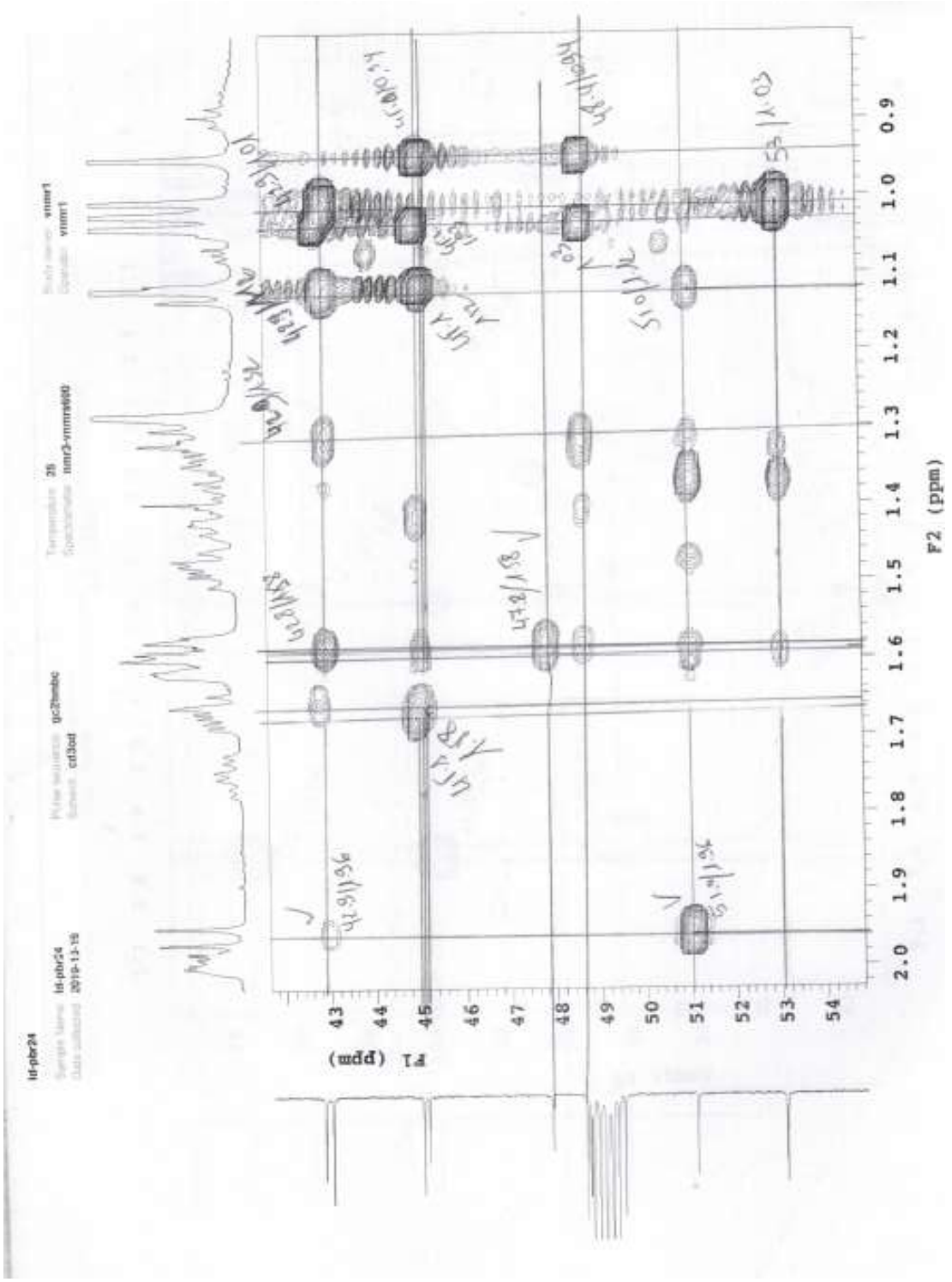

F1 (ppm)
F2 (ppm)

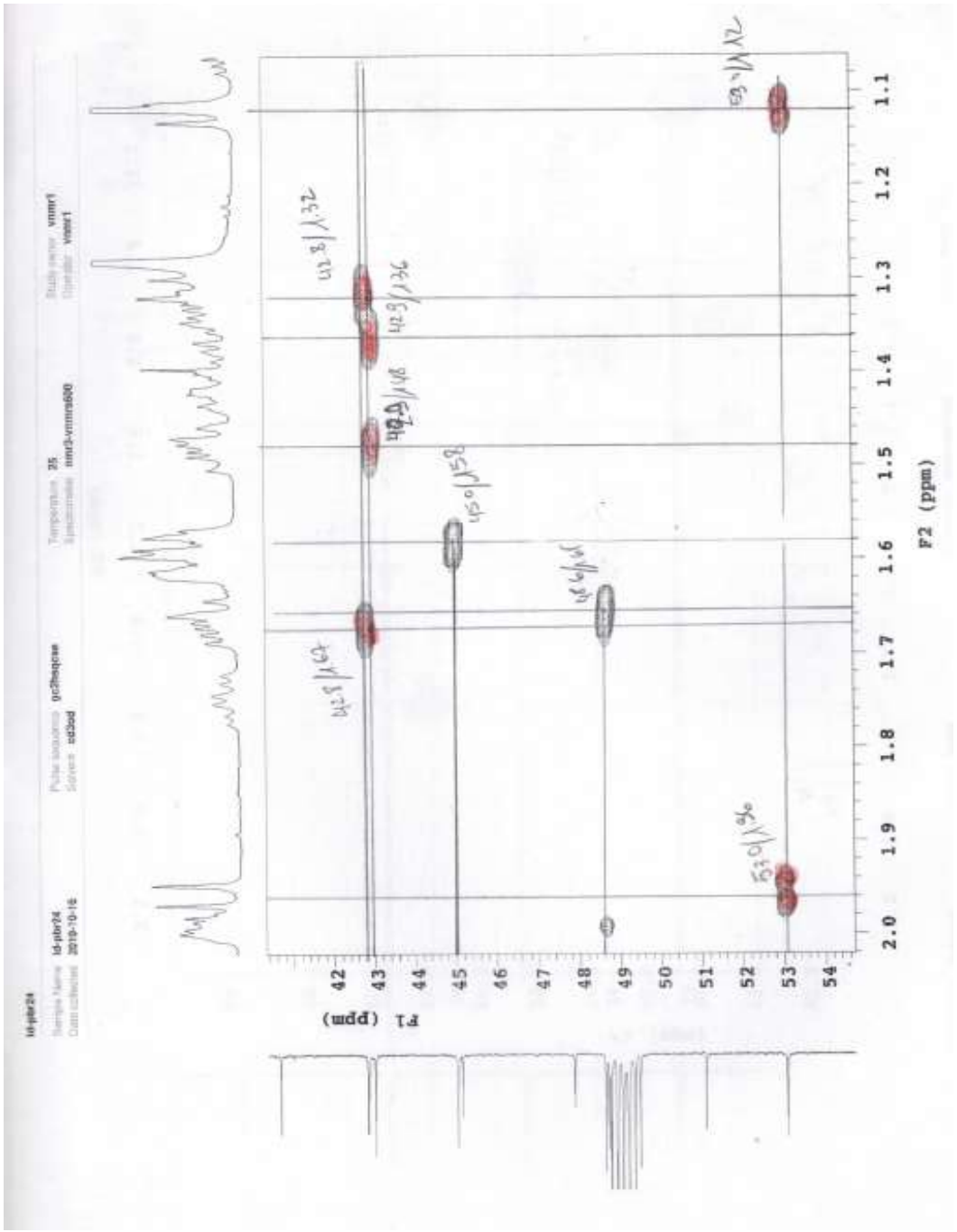
Spectres RMN du composé 14


ppm
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200

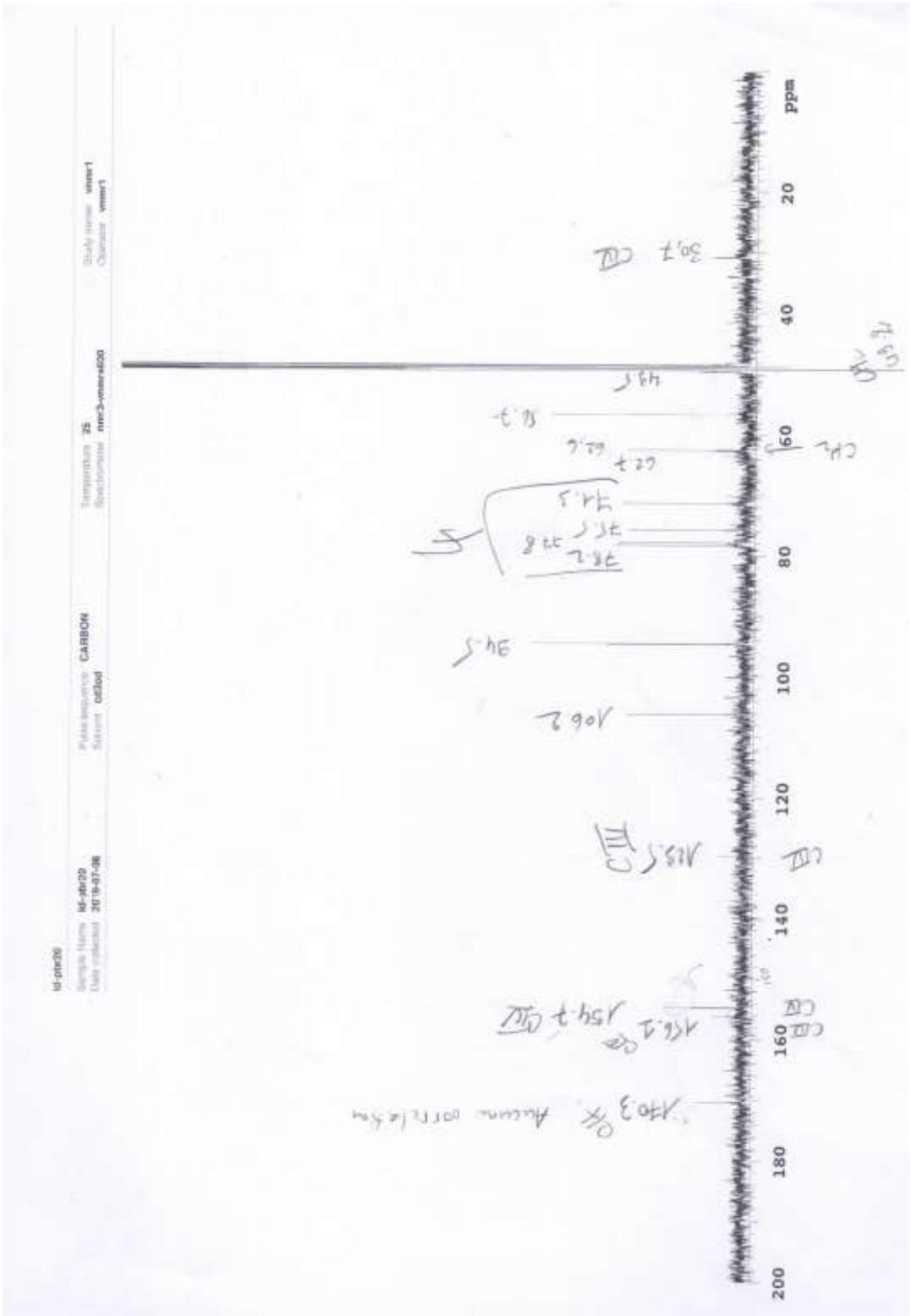

F2 (ppm)
6.6
6.4
6.2
6.0
5.8
5.6
5.4
5.2
5.0
4.8
4.6
4.4
F1 (ppm)
128
132
136
140
144
148

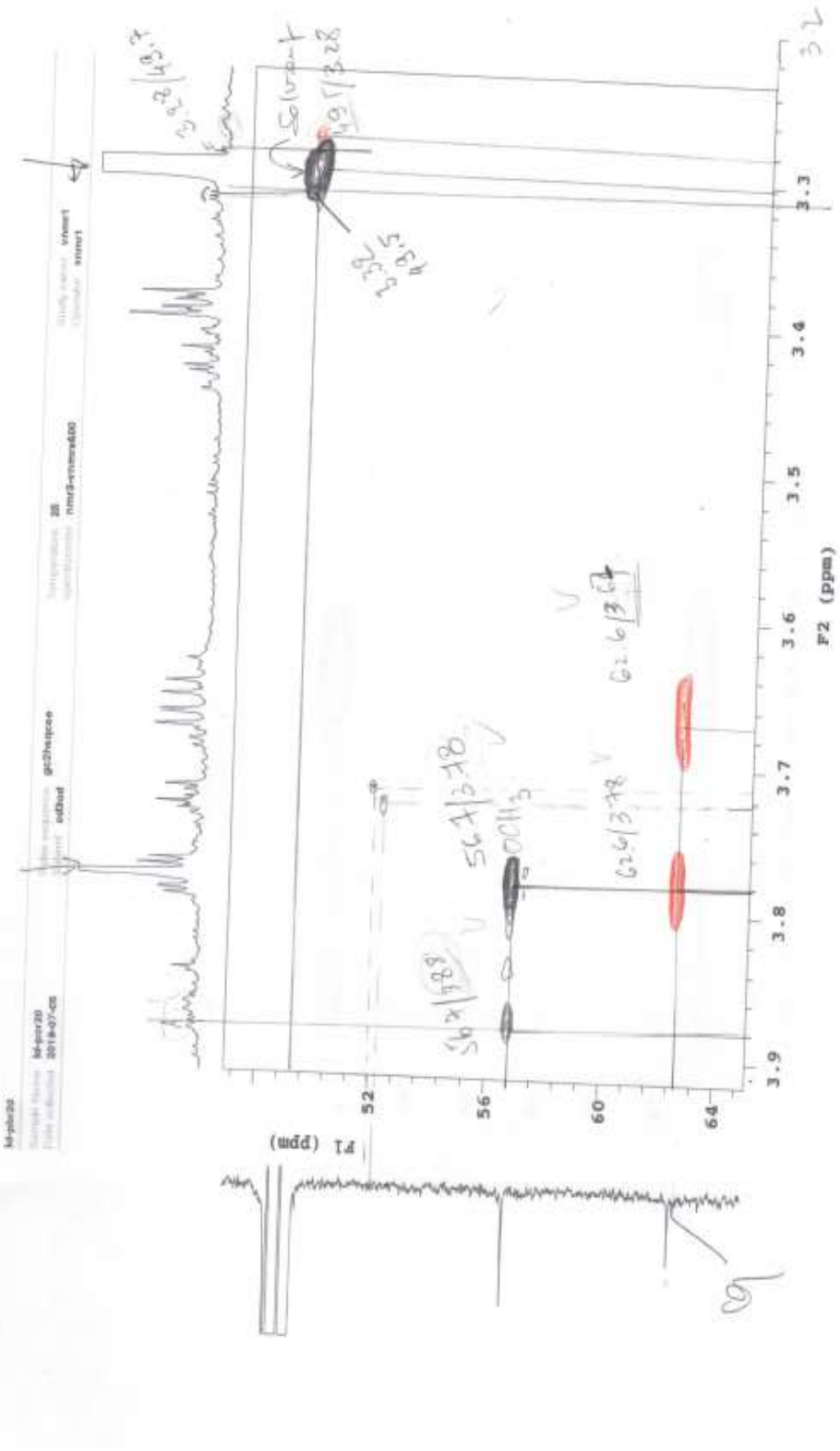
Spectres RMN du composé 15


F2 (ppm)
F1 (ppm)


F1 (ppm)
F2 (ppm)

Spectres RMN du composé 16


id-pbr20
Sample Name id-pbr20
Data collected 2019-07-08
Pulse sequence CARBON
Solvent cdcl3od
Temperature 25
Spectrometer nmr3-vnmrs600
Study owner vnmr1
Operator vnmr1
ppm
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200


F2 (ppm)
3.3
3.4
3.5
3.6
3.7
3.8
3.9
F1 (ppm)
52
56
60
64

Annexe 5 : publication

Khitri, W., Smati, D., Mitaine-Offer, A-C, Paululat, T, Lacaille-Dubois, M-A, 2020. Chemical constituents from *Phlomis bovei* Noë and their chemotaxonomic significance. Biochem. Syst. Ecol.91. https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104054.

Biochemical Systematics and Ecology 91 (2020) 104054

Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical Systematics and Ecology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/biochemsyseco

Chemical constituents from *Phlomis bovei* Noë and their chemotaxonomic significance

Walid Khitri[a,b], Dalila Smati[c], Anne-Claire Mitaine-Offer[a], Thomas Paululat[d], Marie-Aleth Lacaille-Dubois[a,*]

[a] Laboratoire de Pharmacognosie, PEPITE EA 4267, UFR des Sciences de Santé, Université de Bourgogne Franche-Comté, BP 87900, F-21079, Dijon, Cedex, France
[b] Laboratoire de Botanique médicale, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Oran 1, Algeria
[c] Laboratoire de Botanique médicale, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université d'Alger, Algeria
[d] Universität Siegen, OC-II, Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät, D-57076, Siegen, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:
Phlomis bovei Noë
Lamiaceae
Monoterpenes
Phenylethanoid glycoside
Lignans
Chemotaxonomy

ABSTRACT

A phytochemical investigation of the leaves and roots of *Phlomis bovei* Noë (Lamiaceae) led to the isolation of sixteen compounds, including iridoids **(1, 2, 3)**, megastigmanes **(4, 5)**, phenylpropanoids **(6, 7, 8, 9, 10)**, lignans **(11, 12, 13, 14)**, a nortriterpene **(15)**, and a phenyl glucoside **(16)**. Compounds (**1**, **2**, **4**, **5**, **6**, **10**) were obtained from the leaves and compounds (**1**, **2**, **3**, **7**, **8**, **9**, **11**, **12**, **13**, **14**, **15**, **16**) were isolated from the roots. Compounds **1** and **2** were found both in the leaves and in roots.

The compounds were identified by analysis of 1D- (^{1}H, ^{13}C), 2D-NMR (^{1}H–^{1}H COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HMBC) spectroscopic data, mass spectrometry (ESI- and HR-ESI-MS), and by comparison with previously reported spectral data.

Compounds **5, 9, 10, 13 and 14** were isolated from the genus *Phlomis* for the first time. All these specialized metabolites were described here for the first time in the Algerian *Phlomis bovei* Noë species. To the best of our knowledge, no reports have appeared on the constituents of the roots of *P.bovei* Noë. The chemotaxonomic significance of these compounds was summarized.

1. Subject and source

The genus *Phlomis* L. (Lamiaceae) comprises 113 extant species (The Plant List, 2013), mainly distributed in the Mediterranean region, central Asia, and China (Limem-Ben Amor et al., 2009). Thirty-four species grow in Turkey (Huber-Morath, 1982), ten in Jordan (Bader et al., 2015), seventeen in Iran (Sarkhail et al., 2014) and four species grow in Northern Algeria: *Phlomis herba-venti* L., *P.bovei* Noë, *P.caballeroi* Pau and *P.crinita* Cav.(Quezel et Santa, 1963).

In Algerian traditional medicine, *Phlomis* species are used to treat wounds and ulcers.

They are used as tonics, diuretics, and for the treatment of ulcers and haemorrhoids in Anatolian folk medicine (Calis and Kirmizibekmez, 2004). In Asian folk medicine some species are used as a general fortifiant, to treat tuberculosis, pulmonary and cardio-vascular diseases, rheumatoid arthritis (Calis et al., 2005b), inflammations, wounds, and pains (Tanaka et al., 1983; Zhang et al., 1991). In Iranian traditional medicine, they have been used as a stimulant, tonic and to treat pains, respiratory tract infections, diabetes and wounds (Delazar et al., 2008; Nazemiyeh et al., 2008). In Spain, their flower parts are used to prepare a herbal tea with medicinal purposes to alleviate colds and gastrointestinal disorders (Lopez et al., 2010; Limem-Ben Amor et al., 2009).

Phlomis bovei Noë (local name: khiat lajrah) used in this study is an endemic plant, collected in the mountains of Zmala, south-west of Lakhdaria, wilaya of Bouira, at 74 km of south east of Algiers (Algeria) in June 2018 and its identity confirmed by one of us (D. Smati). A voucher specimen (Pb 0035) has been deposited in Laboratory of Medical Botany of Pharmacy Department, University Oran 1 (Algeria).

P.bovei is a perennial herbaceous plant due to a rhizome on which adventitious roots are inserted. The main stem is upright, hairy, with a square section whose length varies from 50 cm to 80 cm. The leaves are simple, tomentose, with pinnate nervation. The basal leaves are cordiform, with long petioles, and those at the summit are lanceolate, opposite and decussate. The flower is zygomorphic with a bilabiate corolla. The plant grows in mountain forests (Quezel and Santa, 1963). In Algeria, leaves are the only part traditionally used internally to treat gastric ulcers and externally to treat wounds.

* Corresponding author.
E-mail address: m-a.lacaille-dubois@u-bourgogne.fr (M.-A. Lacaille-Dubois).

https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104054
Received 3 February 2020; Received in revised form 10 April 2020; Accepted 16 April 2020
0305-1978/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

2. Previous study

Phlomis species contain a diverse range of compounds including iridoid glucosides (Olennikov and Chirikova, 2017; Li et al., 2017), phenyl-ethanoid glycosides (Kırmızıbekmez et al., 2004; Le et al., 2019), flavonoid glycosides (Kabouche et al., 2005; Bader et al., 2015), lignans (Kırmızıbekmez et al., 2004), neolignan glycosides (Ersöz et al., 2002b), megastigmanes (Takeda et al., 2002), monoterpene glycosides (Saracoglu et al., 2003), diterpene glycosyl esters (Yalçin et al., 2006), and nortriterpenes (Limem-Ben Amor et al., 2009), which were reported to be responsible for various biological and pharmacological properties among them anti-nociceptive, anti-inflammatory (Wang et al., 2014; Shang et al., 2011), antioxidant (Lopez et al., 2010; Li et al., 2018a), antimicrobial (Limem-Ben Amor et al., 2008), wound healing, anti-diabetic (Sarkhail et al., 2007), anti-plasmodial (Kirmizibekmez et al., 2004) and anticancer activities (Limem-Ben Amor et al., 2009).

To the best of our knowledge, no phytochemical investigation of the roots of *P. bovei* has been previously carried out.

Previous phytochemical studies on *P.bovei* reported the isolation and characterization of three active compounds in the leaves: apigenin and its 7-*O*-glucoside (apigetrin), and 4-(4′-hydroxyphenyl)-*trans*-but-3-en-2-one (Zaabat et al., 2010). Liolios and co-workers in 2007 characterized seventy-five constituents from the essential oil obtained from the dried aerial plant parts. The principal compounds were germacrene D, *β*-caryophyllene, *β*-bournonene, thymol and hexahydrofarnesyl acetone.

3. Present study

3.1. Extraction and isolation from leaves

Powdered air-dried leaves (20 g) were defatted with petroleum ether (500 ml) and submitted to a microwave assisted extraction three times with EtOH–H_2O (75:35) (500 ml x 3) for 1 h. After evaporation of the solvent under reduced pressure, a crude dark residue (4.5 g) was obtained.

The 75% ethanolic residue was subjected to vacuum liquid chromatography (VLC) on reversed phase C-18 silica gel eluted with an EtOH–H_2O gradient system (0:1, 1:1, 1:0) to give three fractions (PbF 1- PbF 3). Fraction PbF 2 (1.57 g) was further subjected to exclusion column chromatography (CC) on Sephadex LH-20, eluted with MeOH, to yield five fractions (PbF 2.1- PbF 2.5). Fraction PbF 2.1 (254 mg) was subjected to Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC) on normal phase silica gel, eluted with a step gradient system **(a)** $CHCl_3$–MeOH–H_2O (80:20:2, 70:30:5, 60:32:7), to give six fractions (PbF 2.1.1– PbF 2.1.6). Fraction PbF 2.1.3 (44 mg) was purified by MPLC on normal phase silica gel, eluted with a $CHCl_3$–MeOH–H_2O gradient system **(b)** (90:10:0, 90:10:1, 80:20:2, 70:30:5, 60:32:7), followed by MPLC on reversed phase C-18 silica gel, eluted with a gradient system **(c)** MeOH–H_2O (15%–50%), to obtain compound **2** (2 mg) and compound **5** (2 mg). Fraction PbF 2.1.4 (62 mg) was applied to MPLC on normal phase silica gel eluted with system **(b)** to give ten fractions (PbF 2.1.4.1- PbF 2.1.4.10). The purification of fractions PbF 2.1.4.4 (10.1 mg) and PbF 2.1.4.5 (20 mg) by MPLC on reversed phase C-18 silica gel eluted with the system **(d)** MeOH (10%–40%) yielded compounds **4** (4.2 mg) and **10** (2 mg) respectively. Fraction PbF 2.4 (331 mg) was purified by flash chromatography on silica gel, eluted with the system **(a),** to give nine fractions (PbF 2.4.1- PbF 2.4.9). Fraction PbF 2.4.4 (85 mg) was purified by two successive MPLC on reversed phase C-18 silica gel, eluted with the system **(d),** to yield compounds **1** (1.7 mg) and **6** (7.2 mg).

3.2. Extraction and isolation from the roots

Powdered air-dried roots (50 g) were extracted three times with EtOH–H_2O (75: 35) (800 ml × 3). After filtration, and evaporation of the solvent to dryness under reduced pressure, a crude brown residue was obtained (6.1 g). This was submitted to VLC on reversed phase C-18 silica gel, eluted with a stepwise gradient system EtOH–H_2O (0:1, 1:1, 1:0), to give three fractions (PbR 1- PbR 3). Fraction PbR 1 (3 g) was subjected to VLC on reversed phase C-18 silica gel, eluted with a gradient of MeOH–H_2O (0:1, 1:1, 1:0), followed by MPLC on normal phase silica gel eluted with the system **(a),** and MPLC on RP 18 silica gel eluted with system **(d),** to yield compounds **14** (4.2 mg) and **16** (1.9 mg). Fraction PbR 2 (2.34 g) was subjected to VLC on normal phase silica gel, eluted with $CHCl_3$–MeOH–H_2O (60:32:7), to yield five fractions (PbR 2.1 – PbR 2.5). Fraction PbR 2.1 (1.4 g) was subjected to CC on Sephadex LH-20, eluted with EtOH, to yield five fractions (PbR 2.1.1 – PbR 2.1.5). Fraction PbR. Fraction PbR 2.1.3 (226.5 mg) was applied to MPLC on nomal phase silica gel, eluted with the system **(a),** to give thirteen fractions (PbR 2.1.3.1- PbR 2.1.3.13). The purification of fraction PbR 2.1.3.3 (22 mg) by MPLC on normal phase silica gel, eluted with $CHCl_3$–MeOH–H_2O (95:5:0, 80:20:2), gave rise to compound **9** (3.4 mg). Fractions PbR 2.1.3.5 (13 mg) and PbR 2.1.3.7 (15 mg) were purified each one by MPLC on reversed phase C-18 silica gel, eluted with the system **(c),** to yield compounds **13** (3,8 mg), **3** (1.7 mg), and **12** (1.9 mg). Fraction PbR 2.1.4 (819.7 mg) was repeatedly subjected to three successive MPLC on normal phase silica gel, eluted with the gradient system **(a),** then MPLC on reversed phase C-18 silica gel eluted with the system **(d)** to yield compounds **7** (1.7 mg) and **11** (5.4 mg). Fraction PbR 2.2 (493.9 mg) was purified by CC on Sephadex LH-20, eluted with EtOH, to yield five fractions (PbF 2.2.1- PbF 2.2.5). The purification of fraction PbR 2.2.2 (127.9 mg) by MPLC on normal phase silica gel, eluted with the gradient system **(e)** $CHCl_3$–MeOH–H_2O (70:30:5, 60:32:7), yielded **1** (11 mg) and **2** (2 mg). Fraction PbR 2.2.4 (130 mg) was applied to two successive MPLC on normal phase silica gel, eluted with the system **(e),** to yield **8** (5.8 mg). Fraction PbR 3 (316.5 mg) was purified by three successive MPLC normal phase on silica gel, eluted with the system **(e),** to give **15** (4.8 mg).

3.3. Characterization of the compounds

The compounds were identified by comparison of the spectral data obtained from 1D and 2D-NMR spectra (^1H,^{13}C, DEPT, COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, and HMBC) and mass spectral data with literature values. They were identified as lamalbide (lamiridoside) (**1**) (Qiu et al., 2019), shanzhiside methyl ester (**2**) (Harraz et al., 2009), sesamoside (**3**) (Zhang et al., 2018), phlomuroside (**4**) (Sudo et al., 2000), vajicoside (**5**) (Wang et al., 2019), verbascoside (**6**) (Hang et al., 2008), leucosceptoside B**(7)** (Bader et al., 2015)**,** forsythoside B (**8**) (Martin et al., 2007), diacetyl martynoside (**9**) (Chao et al., 2019), angoroside C **(10)** (Díaz et al., 2004)**,** liriodendrine (acanthoside D) (**11**) (Sun et al., 2007), 7,8 dihydrodehydrodiconiferyl alcool-9′-*O*-*B*-D glucopyranoside (**12**) (Selenge et al., 2013), alangilignoside C (**13**) (Kanchanapoom et al., 2001), lyoniresinol 9′-*β*-D- glucopyranoside (**14**) (Ono et al., 2009), phlomispentaol (**15**) (Riaz et al., 2019), leonuriside A (**16**) (Yalçin et al., 2003b) (Fig. 1).

4. Chemotaxonomic significance

The family Lamiaceae, formerly called *Labiatae,* is divided into 12 subfamilies, 16 tribes, 9 subtribes, 245 genera and 7886 accepted species names (The plant List, 2013). It is the sixth largest family of the Angiosperms and the largest family of the Lamiales order. The Lamiaceae are a very interesting family, and extremely complex in all aspects. These species contain various specialized metabolites and are known worldwide for their applications in Ethnopharmacology (Frezza et al., 2019a).

The phytochemistry of the Lamiaceae is very complex because it consists of several groups and subgroups. It can be divided into two major groups that both produce specialized metabolites: the first group

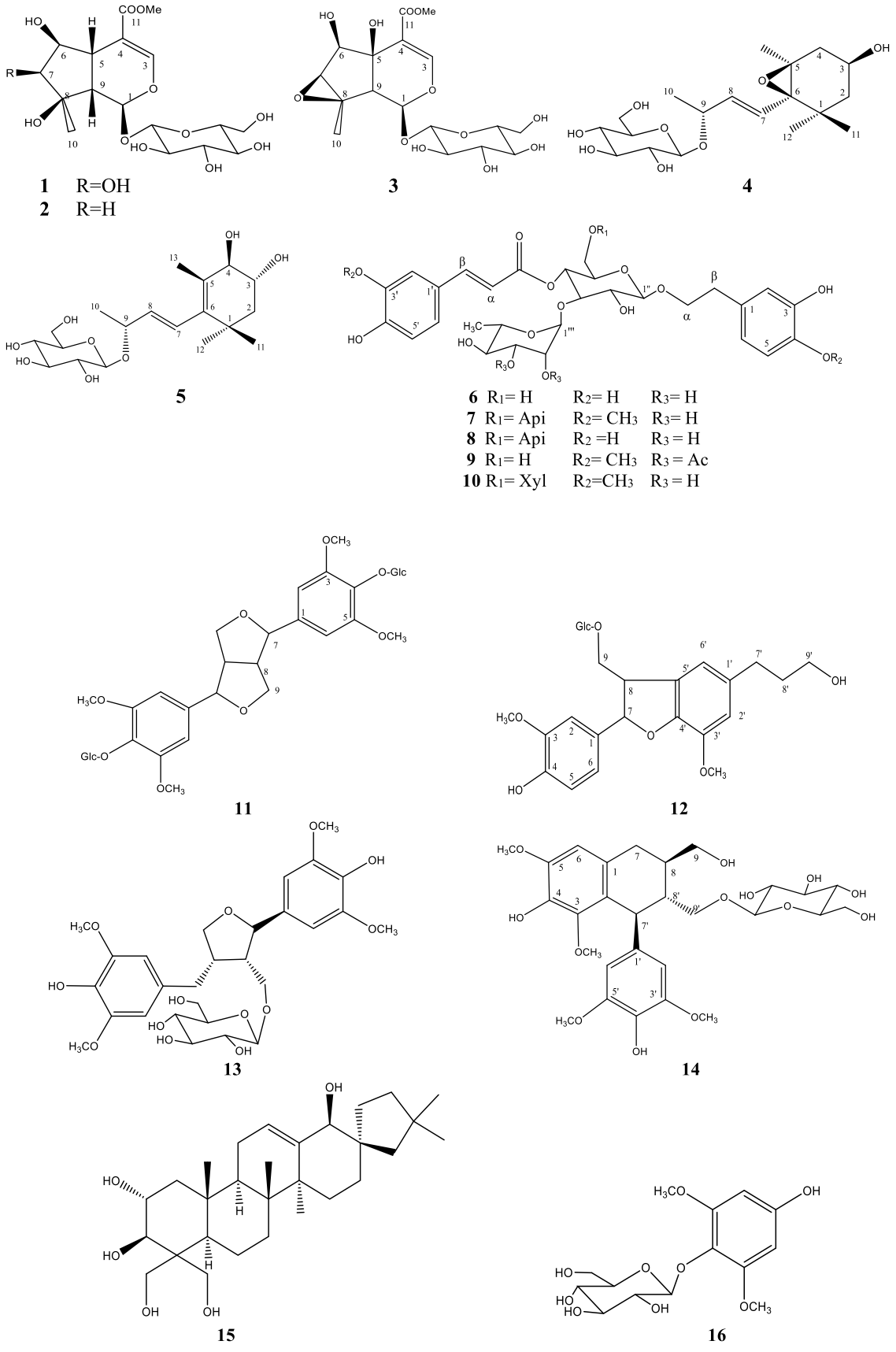


Fig. 1. Structures of compounds **1–16**.

mainly produces volatile terpenoids, found in the essential oil, whereas species in the second group mainly produce non-volatile metabolites such as di- and triterpenes, flavonoids, and iridoids among the polar fraction constituents and are poor essential oil producers (Frezza et al., 2019a). *Phlomis* species belong to the second group, and for example the yield of the essential oil obtained by hydrodistillation of the aerial parts of *P. bovei* was 0,22% w/w (Liolios et al., 2007) v/s 1,2% for *Mentha* × *piperita* L. and 1,3% for *Lavandula angustifolia* Mill.

To the best of our knowledge, this is the first comprehensive chemical study of leaves and roots of the whole *P. bovei* plant. During our investigation, the isolated and well-characterized secondary metabolites included three iridoids (**1–3**), two megastigmanes **(4, 5)**, five phenylpropanoids (**6–10**), four lignans (**11–14**), one nortriterpene (**15**), and one phenyl glucoside (**16**) (Fig. 1). These results broaden the chemical diversity and provide evidence to further analyze their potential chemotaxonomic significance.

All compounds **(1–16)** were isolated from *P. bovei* for the first time. Compounds (**1**, **2**, **4–6**, and **10**) were obtained from the leaves and compounds (**1–3**, **7–9**, **11–16**) were isolated from the roots. Compounds **1** and **2** were found both in the leaves and roots.

Compounds **1–4, 6–8, 11–12, 15–16** have been previously reported from different species of the genus Phlomis. Compounds **5**, **9**, **10**, **13**, and **14** were isolated from the genus *Phlomis* for the first time. *Phlomis* and might reveal the close chemotaxonomic relationships between *P. bovei* and the other species of *Phlomis* mentioned in Table 1. They may serve as potential chemotaxonomic markers to differentiate *P. bovei* from other species of *Phlomis*, in view of the fact that they have not been isolated from the other species of this genus so far. This is the first report of compounds **5**, **9**, **10** from the Lamiaceae family and be used to differentiate *Phlomis bovei* from other genera in the Lamiaceae family (Table 2).

These results of our investigation summarized in Table 2 showed that the isolated compounds belong mainly to two major phytochemical groups, with three iridoids (**1–3**), and nine phenylpropanoids (**6–14**), including monomers (**6–10**) and dimers, the lignans (**11–14**). The megastigmanes (**4,5**) are much less broadly distributed. The nortriterpene (**15**) and phenolglucoside (**16**) are of less importance for the purpose of the discussion.

The iridoids **1–3** are widely distributed in the genus *Phlomis* (Table 1). Furthermore they are present in three other genera of the Lamiaceae family (*Lamiophlomis*, *Erymostachys*, and *Lamium*), and three families of the order of Lamiales (Verbenaceae for **1, 2,** Acanthaceae, and Orobanchaceae for **2**). The presence of these iridoids in *P. bovei* indicated the close phylogenetic relationship between *P. bovei*, other *Phlomis* species and genera of the Lamiaceae.

About the phenylpropanoids (**6–10**), they have been reported from several *Phlomis* species except **9–10** being isolated for the first time from a *Phlomis* species and from a Lamiaceae species (Table 2). Compounds **6–8** were isolated from other genera of Lamiaceae (*Lamiophlomis*, *Erymostachys*) and other families (Verbenaceae, Acanthaceae Orobanchaceae, Bignoniaceae) belonging to the Lamiales order. These findings also showed the close relationship between the genus *Phlomis* and genera belonging to the Lamiaceae family and Lamiales order. Compound **6,** a caffeoyl sugar ester, Verbascoside also named actoside (He et al., 2000; Zhang et al., 2019; Alipieva et al., 2014), represents one of the main phenylethanoid glycosides in the Lamiaceae species and is encountered for the first time in *P. bovei.* Harborne (1966) predicted that caffeoyl conjugates would represent useful characters for the classification of the order Lamiales. Our results confirm this prediction.

Among the lignans **11–14**, two of them **13–14** were isolated for the first time from a *Phlomis* species, but were already encountered in the genera *Callicarpa* and *Premna* from the Lamiaceae whereas **11, 12** were previously isolated from five and four species of *Phlomis*. respectively (Table 2) and in *Dracocephalum* from the Lamiaceae. Furthermore **11** and **13** were reported from Oleaceae and Acanthaceae, respectively (Table 2) belonging to the Lamiales order. This findings again showed that the lignans isolated *from P. bovei* might bring useful criteria to show the close relationship between the *Phlomis* genus and other genera of the Lamiaceae family and the Lamiales order.

About the megastigmanes, compound **4** was previously reported from four species of the genus *Phlomis* (Table 1) and compound **5** is reported for the first time from the Lamiaceae and the Lamiales order. However, it was reported in the genus *Tribulus* (Zygophyllales) (Nebieridze et al., 2018), together with two molecules of different configurations of compound **5**, phlomisionoside from *Phlomis spinidens* Nevski (Takeda et al., 2002) and *Lagopsis supine* (Steph. ex Willd.)

Table 1
Compounds isolated from *Phlomis* species.

Compounds	*Phlomis* species	References
1	*P. longifolia var. longifolia*	Ersöz et al. (2001b)
	P. lunariifolia Sm.	Calis and Kirmizibekmez, (2004)
	P. rigida Labill.	Takeda et al. (2000)
	P. spinidens Nevski	Takeda et al. (2001)
	P. tuberosa L.	Calis et al. (2005b)
2	*P. likiangensis* C.Y.Wu	Li et al. (2017)
	P. longifolia var. longifolia	Ersöz et al. (2001b)
	P. lunariifolia Sm.	Calis and Kirmizibekmez, (2004)
	P. rigida Labill.	Takeda et al. (2000)
	P. rotata ex Hook.f.	Zhang et al. (1991)
	P. samia L.	Yalçin et al. (2003a)
	P. spinidens Nevski	Takeda et al. (2001)
	P. tuberosa L.	Ersöz et al. (2001a)
	P. umbrosa Turcz.	Shang et al. (2011)
	P. younghusbandi Mukerjee	Kasai et al. (1994)
	P. umbrosa Turcz.	Shang et al. (2011)
3	*P.likiangensis* C.Y.Wu	Li et al. (2017)
	P.medicinalis Diels	Yu et al. (2006)
	P.mongolica Turcz.	Zhang and Li, (1996)
	P.tuberosa L.	Alipieva et al. (2000)
	P. umbrosa Turcz.	Shang et al. (2011)
	P.younghusbandi Mukerjee	Kasai et al. (1994)
4	*P. aurea* Decne.	Kamel et al. (2000)
	P. lunariifolia Sm.	Calis and Kirmizibekmez, (2004)
	P. samia L.	Yalçin et al. (2003b)
	P. viscosa Poir.	Calis et al. (2005a)
6	*P. amanica* Vierh.	Yalçin et al. (2006)
	P. armeniaca Willd.	Saracoglu et al. (1995)
	P. aurea Decne.	Kamel et al. (2000)
	P. brunneogaleata Hub.-Mor.	Kirmizibekmez et al. (2004)
	P. carica Rech.f.	Yalçin et al. (2003a)
	P. caucasica Rech.f.	Delazar et al. (2008)
	P. crinita Cav.	Kabouche et al. (2005)
	P. fruticosa L.	Ersöz et al. (2002a)
	……	
7	*P. nissolii* L.	Kırmızıbekmez et al. (2004)
	P. kurdica Rech.f.	Bader et al. (2015)
8	*P. aurea* Decne.	Aboutabl et al. (2002)
	P. brunneogaleata Hub.-Mor.	Kirmizibekmez et al. (2004)
	P. caucasica Rech.f.	Delazar et al. (2008)
	P. grandiflora H.S.Thomps.	Ersöz et al. (2002a)
	P. fruticosa L.	Ersöz et al. (2002a)
	P. integrifolia Hub.-Mor.	Saracoglu et al. (2003)
	P. kotschyana Hub.-Mor.	Harput et al. (2004)
	P. kurdica Rech.f.	Bader et al. (2015)
	P. lanceolata Boiss. & Hohen	Nazemiyeh et al. (2008)
	……	
11	*P. amanica* Vierh.	Yalçin et al. (2006)
	P. aurea Decne.	Kamel et al. (2000)
	P. brunneogaleata Hub.-Mor.	Kirmizibekmez et al. (2004)
	P. capitata Boiss.	Kırmızıbekmez et al. (2004)
	P. kotschyana Hub.-Mor.	Harput et al. (2004)
12	*P. chimerae* Boissieu	Ersöz et al. (2002b)
	P. lunariifolia Sm.	Calis and Kirmizibekmez, (2004)
	P. lycia D.Don	Saracoglu et al. (2002)
	P. tuberosa L.	Calis et al. (2005b)
15	*P. stewartii* Hook.f.	Riaz et al. (2019)
	P. umbrosa Turcz.	Liu et al. (2008)
16	*P. samia* L.	Yalçin et al. (2003b)

Table 2
Repartition of the compounds isolated from *Phlomis bovei* in the genus, family and order.

Cpd	Phytochemical class/name of the compound	*P. bovei* for the first time	*P. bovei* leaves	*P. bovei*Roots	Other species of *Phlomis (see Table 1)*	*Phlomis for* first time	LAMIACEAE	References	LAMIALES	References
1	Iridoid/lamiridoside	X	X	X	X 5 ssp		*Lamiophlomis* *Erymostachys* *Lamium*	Zhang et al. (2012) Jian et al. (2018) Calis et al. (2007) Delazar et al. (2013) Eigtved et al. (1974) Yalçin et al. (2008) Kikuchi et al. (2009)	Verbenaceae Orobanchaceae	Mohamed et al. (2017) Frezza et al. (2019b)
2	**Iridoid**/shanzhiside methyl ester	X	X	X	X 11 ssp		*Lamiophlomis* *Erymostachys* *Lamium*	Tan et al. (2007) Zhang et al. (2012) Zhang et al. (2018) Jian et al. (2018) Calis et al. (2007) Delazar et al. (2013) Yalçin et al. (2008) Kikuchi et al. (2009)	Verbenaceae Acanthaceae Orobanchaceae	Mohamed et al. (2017) Kanchanapoom et al. (2001) Senger et al. (2016) Von Poser et al. (1996) Frezza et al. (2019b)
3	**Iridoid**/sesamoside	X		X	X 6 ssp		*Lamiophlomis* *Erymostachys* *Lamium*	Tan et al. (2007) Zhang et al. (2012) Zhang et al. (2018) Jian et al. (2018) Calis et al. (2007) Delazar et al. (2013) Yalçin et al. (2008)		
4	**Megastigmane**/phlomuroside	X	X		X 4 ssp		*Premna*	Sudo et al. (2000)		
5	**Megastigmane**/vajicoside	X	X			X				
6	**Phenyl propanoid**/verbascoside	X	X		X many species		*Lamiophlomis*	Tan et al. (2007) Zhang et al. (2018) Jian et al. (2018)	Verbenaceae Orobanchaceae	Fauvel et al. (1993) Timoteo et al. (2015) Gibitz-Eisath et al. (2018) Von Poser et al. (1996) Su et al. (1998) Lin et al. (2004) Frezza et al. (2019b)
7	**Phenyl Propanoid**/leucosceptoside **B**	X		X	X 2 ssp		*Lamiophlomis*	Yue et al. (2013)		
8	**Phenyl Propanoid**/forsythoside B	X		X	X 9 ssp		*Lamiophlomis* *Erymostachys*	Tan et al. (2007) Zhang et al. (2018) Jian et al. (2018) Delazar et al. (2013)	Verbenaceae Acanthacee Bignoniaceae Orobanchaceae	Timoteo et al. (2015) Kanchanapoom et al. (2001) Martin et al. (2007) Zhang et al. (2008) Frezza et al. (2019b)
9	**Phenyl Propanoid**/diacetyl martynoside	X		X		X			Verbenaceae Orobanchaceae	Yue et al. (2015) Frezza et al. (2019b)
10	**Phenyl Propanoid**/angoroside C	X	X			X			Scrophulariaceae	Han et al. (2018)
11	**Lignans**/liriodendrine	X		X	X 5 ssp		*Dracocephalum*	Gu et al. (2005)	Oleaceae	Sun et al. (2007)

(*continued on next page*)

Table 2 (*continued*)

Cpd	Phytochemical class/name of the compound	*P. bovei* for the first time	*P. bovei* leaves	*P. bovei*Roots	Other species of *Phlomis* (*see Table 1*)	*Phlomis for* first time	LAMIACEAE	References	LAMIALES	References
12	**Lignans**/7,8 dihydrodehydrodiconiferyl alcool-9′-*O*-*β*-D glucopyranoside	X		X	X 4 ssp		*Dracocephalum*	Selenge et al. (2013)		
13	**Lignans**/alangilignoside C	X		X		X	*Callicarpa*	Ono et al. (2009)	Acanthaceae	Tanaka et al. (2004)
14	**lignans**/lyoniresinol 9′-*β*-D- glucopyranoside	X		X		X	*Callicarpa* *Premna*	Ono et al. (2009) Yuasa et al. (1993)		
15	**Nortriterpene**/phlomispentaol	X		X	X 2ssp					
16	**Phenolglucosid**/leonuriside A	X		X	X 1 ssp		*Premna*	Hang et al. (2008)		

Ikonn.-Gal (Zhang et al., 2015). (Lamiaceae) and debiloside B from *Equisetum debile* Roxb. ex Vaucher belonging to the family of Equisetaceae and the order of Equisetales (Xu et al., 2006; Kanchanapoom et al., 2007), and *Brassica oleracea* var. *acephala* DC. belonging to the Brassicaceae family and the Brassicales order (Kang et al., 2018). Although compound **5** was never previously reported from the Lamiaceae, additional phytochemical studies on other *Phlomis* species are necessary to clarify the chemotaxonomic relationships on the basis of occurrence of megastigmanes.

Studies have shown that most plant-derived bioactive compounds with antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties have a high potential to be active in wound healing, since these main mechanisms contribute to this phenomenon (Chingwaru et al., 2019) The traditional use of *P. bovei* leaves for their wound-healing activity is probably due to the synergistic activity of the isolated compounds. The antioxidant and anti-inflammatory properties of isolated metabolites such as compound **2** (Viljoen et al., 2012), compound **4** (Zhang et al., 2004), compound **10** (Zhang et al., 2017) and especially compound **6** (Li et al., 2018b; Khullar et al., 2019), reinforce our hypothesis.

In conclusion, our phytochemical study extends the phytochemical composition of the genus *Phlomis*. The occurrence of iridoids and phenylpropanes as principal constituents of *Phlomis bovei* may serve as potential characters for exploring the chemotaxonomic relationships between *Phlomis* and other genera of Lamiaceae. This study revealed that the phenylpropanes **9**, **10**, **13**, **14** might be regarded as important chemotaxonomic markers to differentiate *Phlomis bovei* from other *Phlomis* species. Further phytochemical studies on other species of *Phlomis* and other genera of the Lamiaceae family will help to evaluate the chemotaxonomic importance of these compounds.

CRediT authorship contribution statement

Walid Khitri: Investigation, Writing - original draft. **Dalila Smati:** Conceptualization. **Anne-Claire Mitaine-Offer:** Supervision. **Thomas Paululat:** Methodology. **Marie-Aleth Lacaille-Dubois:** Conceptualization, Writing - review & editing.

Declaration of competing interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research who provided a fellowship to **Walid Khitri.**

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104054.

References

Aboutabl, E.A., Meselhy, M.R., Afifi, M.S., 2002. Iridoids from *Phlomis aurea* decne growing in Egypt. Pharmazie 57, 646–647.

Alipieva, K., Jensen, S., Franzyk, H., Handjieva, N., Evstatieva, L., 2000. Iridoid glucosides from *Phlomis tuberosa* L. and *Phlomis herba-ventis* L. Z. Naturforsch., C,. J. Bio. Sci. 54c, 137–140. https://doi.org/10.1515/znc-2000-3-402.

Alipieva, K., Korkina, L., Orhan, I.E., Georgiev, M.I., 2014. Verbascoside–a review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance. Biotechnol. Adv. 32, 1065–1076. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.001.

Bader, A., Tuccinardi, T., Granchi, C., Martinelli, A., Macchia, M., Minutolo, F., De Tommasi, N., Braca, A., 2015. Phenylpropanoids and flavonoids from *Phlomis kurdica* as inhibitors of human lactate dehydrogenase. Phytochemistry 116, 262–268. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.03.007.

Calis, I., Güvenç, A., Armağan, M., Koyuncu, M., Gotfredsen, C.H., Jensen, S.R., 2007. Iridoid glucosides from *Eremostachys moluccelloides* bunge. Helv. Chim. Acta 90, 1461–1466. https://doi.org/10.1002/hlca.200790150.

Calis, I., Kirmizibekmez, H., 2004. Glycosides from *Phlomis lunariifolia*. Phytochemistry 65, 2619–2625. https://doi.org/10.1002/hlca.200790150.
Calis, I., Kirmizibekmez, H., Beutler, J., Dönmez, A., Yalçin, F., Kilic, E., Özalp, M., Rüedi, P., Tasdemir, D., 2005a. Secondary metabolites of *Phlomis viscosa* and their biological activities. Turk. J. Chem. 29, 71–81.
Calis, I., Kirmizibekmez, H., Ersöz, T., Dönmez, A., Gotfredsen, C., Jensen, S., 2005b. Iridoid glucosides from Turkish *Phlomis tuberosa*. Z. Naturforsch. B 60b, 1295–1298. https://doi.org/10.1515/znb-2005-1214.
Chao, C.-L., Huang, H.-C., Ding, H.-Y., Lai, J.-H., Lin, H.-C., Chang, W.-L., 2019. A new macrocyclic diterpenoid from *Anisomeles indica*. Nat. Prod. Res. 1–9. https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1586692.
Chingwaru, C., Bagar, T., Maroyi, A., Kapewangolo, P.T., Chingwaru, W., 2019. Wound healing potential of selected Southern African medicinal plants: a review. Int. J. Herb. Med. 17–18, 100263. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100263.
Delazar, A., Sabzevari, A., Mojarrab, M., Nazemiyeh, H., Esnaashari, S., Nahar, L., Razavi, S.M., Sarker, S.D., 2008. Free-radical-scavenging principles from *Phlomis caucasica*. J. Nat. Med. 62, 464–466. https://doi.org/10.1007/s11418-008-0255-y.
Delazar, A., Sarker, S.D., Nahar, L., Jalali, S.B., Modaresi, M., Hamedeyazdan, S., Babaei, H., Javadzadeh, Y., Asnaashari, S., Bamdad Moghadam, S., 2013. Rhizomes of *Eremostachys laciniata:* isolation and structure elucidation of chemical constituents and a clinical trial on inflammatory diseases. Adv. Pharmaceut. Bull. 3, 385–393. https://doi.org/10.5681/apb.2013.062.
Díaz, A.M.A., Abad, M.A.J., Fernández, L., Silván, A.M., De Santos, J., Bermejo, P., 2004. Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia:* in vitro anti-inflammatory activity. Life Sci. 74, 2515–2526. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.008.
Eigtved, P., Jensen, S., Nielsen, B., Åkerström, S., Taticchi, A., Mannervik, B., 1974. A novel iridoid glucoside isolated from *Lamium album* L. Acta Chem. Scand. B 28, 85–91. https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.28b-0085.
Ersöz, T., Ivancheva, S., Akbay, P., Sticher, O., Calis, I., 2001a. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis tuberos*a L. Z. Naturforsch., C, J. Biosci. 56, 695–698. https://doi.org/10.1515/znc-2001-9-1004.
Ersöz, T., Saracoglu, I., Harput, S., Calis, I., 2002a. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Phlomis grandiflora* var. *fimbrilligera* and *Phlomis fruticosa*. Turk. J. Chem. 26, 171–178.
Ersöz, T., Saracoglu, I., Tasdemir, D., Kirmizibekmez, H., Dönmez, A., Ireland, C., Calis, I., 2002b. Neolignan glucosides from *Phlomis chimerae* boiss. Z. Naturforsch., C, J. Biosci. 57, 221–225. https://doi.org/10.1515/znc-2002-3-404.
Ersöz, T., Schuhly, W., Popov, S., Handjieva, N., Sticher, O., Calis, I., 2001b. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis longifolia* var. *longifolia*. Nat. Prod. Lett. 15, 345–351. https://doi.org/10.1080/10575630108041302.
Fauvel, M.T., Taoubi, K., Gleye, J., Fouraste, I., 1993. Phenylpropanoid glycosides from *Avicennia marina*. Planta Med. 59, 387. https://doi.org/10.1055/s-2006-959711.
Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., Bianco, A., 2019a. Chapter 4 - phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceutics of lamiaceae. In: In: Ur Rahman, A. (Ed.), Studies in Natural Products Chemistry, vol. 62. Elsevier, pp. 125–178. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00004-6.
Frezza, C., Venditti, A., Toniolo, C., Vita, D.D., Serafini, I., Ciccòla, A., Franceschin, M., Ventrone, A., Tomassini, L., Foddai, S., Guiso, M., Nicoletti, M., Bianco, A., Serafini, M., 2019b. *Pedicularis* L. Genus: systematics, botany, phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and other. Plants 8, 306. https://doi.org/10.3390/plants8090306.
Gibitz-Eisath, N., Eichberger, M., Gruber, R., Sturm, S., Stuppner, H., 2018. Development and validation of a rapid ultra-high performance liquid chromatography diode array detector method for *Verbena officinalis* L. J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 160, 160–167. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.047.
Gu, H.-F., Chen, R.-Y., Sun, Y.-H., Xing, J.-G., 2005. Studies on chemical constituents in herbs of *Dracocephalum moldavica* II. Zhongguo Zhongyao Zazhi 30, 677–679.
Han, M.-F., Zhang, X., Zhang, L.-Q., Li, Y.-M., 2018. Iridoid and phenylethanol glycosides from *Scrophularia umbrosa* with inhibitory activity on nitric oxide production. Phytochem. Lett. 28, 37–41. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.09.011.
Hang, N., Ky, P., Minh, C., Cuong, N., Thao, N., Kiem, P., 2008. Study on the chemical constituents of *Premna integrifolia* L. Nat. Prod. Commun. 3, 1449–1452. https://doi.org/10.1177/1934578X0800300909.
Harborne, J.B., 1966. Notizen: caffeic acid ester distribution in higher plants. Z. Naturforsch. B 21, 604–605. https://doi.org/10.1515/znb-1966-0634.
Harput, U., Saracoglu, I., Calis, I., Dönmez, A., Nagatsu, A., 2004. Secondary metabolites from *Phlomis kotschyana*. Turk. J. Chem. 28, 767–774.
Harraz, F.M.H., El-Halawany, A.M., El Gayed, S.H., Abdel-Sattar, E., 2009. Iridoid glycosides from *Barleria trispinosa*. Nat. Prod. Res. 23, 903–908. https://doi.org/10.1080/14786410802278350.
He, Z.D., Lau, K.M., Xu, H.X., Li, P.C., Pui-Hay But, P., 2000. Antioxidant activity of phenylethanoid glycosides from *Brandisia hancei*. J. Ethnopharmacol. 71, 483–486. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00189-6.
Huber-Morath, A., 1982. *Phlomis* L. In: Davis, P.H. (Ed.), Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburg University Press, Edinburgh, pp. 102–126.
Jian, W., Yunling, G., Yilong, C., Yiwen, C., Yi, Z., Li, X., Zheng, P., 2018. *Lamiophlomis rotat*a Identification via ITS2 barcode and quality evaluation by UPLC-QTOF-MS couple with multivariate analyses. Molecules 23, 3289. https://doi.org/10.3390/molecules23123289.
Kabouche, A., Kabouche, Z., Seguin, E., Tillequin, F., Bruneau, C., 2005. A phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Cav.) (Lamiaceae). Biochem. Systemat. Ecol. 33, 813–816. https://doi.org/10.1016/j.bse.2005.01.006.
Kamel, M.S., Mohamed, K.M., Hassanean, H.A., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., 2000. Iridoid and megastigmane glycosides from *Phlomis aurea*. Phytochemistry 55, 353–357. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00331-9.
Kanchanapoom, T., Kasai, R., Yamasaki, K., 2001. Iridoid glucosides from *Barleria lupulina*. Phytochemistry 58, 337–341. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00236-9.
Kanchanapoom, T., Otsuka, H., Ruchirawat, S., 2007. Megastigmane glucosides from *Equisetum debile* and. *E. diffusum*. Chem. Pharm. Bull. 55, 1277–1280. https://doi.org/10.1248/cpb.55.1277.
Kang, U., Ryu, S.M., Lee, D., Seo, E.K., 2018. Chemical constituents of the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala*. Chem. Nat. Compd. 54, 1023–1026. https://doi.org/10.1007/s10600-018-2542-5.
Kasai, R., Katagiri, M., Ohtani, K., Yamasaki, K., Chong-Ren, Y., Tanaka, O., 1994. Iridoid glycosides from *Phlomis younghusbandii* roots. Phytochemistry 36, 967–970. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90473-4.
Kikuchi, M., Onoguchi, R., Yaoita, Y., 2009. Three new monoterpene glucosides from *Lamium amplexicaule*. Helv. Chim. Acta 92, 2063–2070. https://doi.org/10.1002/hlca.200900158.
Kirmizibekmez, H., Calis, I., Perozzo, R., Brun, R., Donmez, A.A., Linden, A., Ruedi, P., Tasdemir, D., 2004. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogaleata* against parasitic protozoa and plasmodial enoyl-ACP Reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis. Planta Med. 70, 711–717. https://doi.org/10.1055/s-2004-827200.
Kırmızıbekmez, H., Piacente, S., Pizza, C., Dönmez, A., Calis, I., 2004. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Phlomis nissolii* and *P. capitata*. Z. Naturforsch., B J. Chem. Sci. 59, 609–613. https://doi.org/10.1515/znb-2004-0523.
Khullar, M., Sharma, A., Wani, A., Sharma, N., Sharma, N., Chandan, B.K., Kumar, A., Ahmed, Z., 2019. Acteoside ameliorates inflammatory responses through NFkB pathway in alcohol induced hepatic damage. Int. Immunopharm. 69, 109–117. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.020.
Le, D., Nguyen, D., Bingtian, Z., Min, B., Song, S., Woo, M., 2019. Quantitation and radical scavenging activity evaluation of iridoids and phenylethanoids from the roots of *Phlomis umbros*a (Turcz.) using DPPH free radical and DPPH-HPLC methods, and their cytotoxicity. Nat. Prod. Sci. 25, 122. https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.122.
Li, X.-H., Li, X.-H., Yao, Q., Lu, L.-H., Li, Y.-B., Wu, D.-S., Fu, D.-H., Mei, S.-X., Cui, T., Wang, J.-K., Zhu, Z.-Y., 2017. Phlolosides A–F, iridoids from *Phlomis likiangensis* with a carbonate ester substituent. Tetrahedron Lett. 58, 3112–3118. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.06.078.
Li, X., Xie, Y., Li, K., Wu, A., Xie, H., Guo, Q., Xue, P., Maleshibek, Y., Zhao, W., Guo, J., Chen, D., 2018a. Antioxidation and cytoprotection of acteoside and its derivatives: comparison and mechanistic chemistry. Molecules 23, 498. https://doi.org/10.3390/molecules23020498.
Li, Y., Yu, H., Jin, Y., Li, M., Qu, C., 2018b. Verbascoside alleviates atopic dermatitis-like symptoms in mice via its potent anti-inflammatory effect. Int. Arch. Allergy Immunol. 175, 220–230. https://doi.org/10.1159/000486958.
Limem-Ben Amor, I., Boubaker, J., Ben Sgaier, M., Skandrani, I., Bhouri, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlel, I., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., 2009. Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. J. Ethnopharmacol. 125, 183–202. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.022.
Limem-Ben Amor, I., Neffati, A., Ben Sgaier, M., Bhouri, W., Boubaker, J., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Ben Ammar, R., Chraief, I., Hammami, M., Ghoul, M., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K., 2008. Antimicrobial activity of essential oils isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. mauritanica Munby. J. Am. Oil Chem. Soc. 85, 845–849. https://doi.org/10.1007/s11746-008-1272-4.
Lin, L.C., Chiou, W.F., Chou, C.J., 2004. Phenylpropanoid glycosides from *Orobanche caerulescens*. Planta Med. 70, 50–53. https://doi.org/10.1055/s-2004-815455.
Liolios, C., Laouer, H., Boulaacheb, N., Gortzi, O., Chinou, I., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Algerian *Phlomis bovei* De Noë subsp. *bovei*. Molecules 12, 772–781. https://doi.org/10.3390/12040772.
Liu, P., Zhang, W., Takaishi, Y., Duan, H.-Q., 2008. Novel nortriterpenes from *Phlomis umbrosa*. Chem. Pharm. Bull. 56, 951–955. https://doi.org/10.1248/cpb.56.951.
Lopez, V., Jäger, A., Akerreta, S., Cavero, R., Calvo, M., 2010. Antioxidant activity and phenylpropanoids of *Phlomis lychnitis* L.: a traditional herbal tea. Plant Foods Hum. Nutr. (Dordr.) 65, 179–185. https://doi.org/10.1007/s11130-010-0169-1.
Martin, F., Hay, A.-E., Corno, L., Gupta, M., Hostettmann, K., 2007. Iridoid glycosides from the stems of *Pithecoctenium crucigerum* (Bignoniaceae). Phytochemistry 68, 1307–1311. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.002.
Mohamed, N.M., Makboul, M.A., Farag, S.F., Tarawneh, A.H., Khan, S.I., Brooks, T.A., Wang, Y.-H., Ross, S.A., 2017. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from the roots of *Lantana montevidensis*. Med. Chem. Res. 26, 1117–1126. https://doi.org/10.1007/s00044-017-1817-x.
Nazemiyeh, H., Rahman, M.M., Gibbons, S., Nahar, L., Delazar, A., Ghahramani, M.A., Talebpour, A.H., Sarker, S.D., 2008. Assessment of the antibacterial activity of phenylethanoid glycosides from *Phlomis lanceolata* against multiple-drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. J. Nat. Med. 62, 91–95. https://doi.org/10.1007/s11418-007-0194-z.
Nebieridze, V., Skhirtladze, A., Kemertelidze, E., Ganzera, M., 2018. Megastigmane glycosides from leaves of *Tribulus terrestris*. Chem. Nat. Compd. 54, 63–65. https://doi.org/10.1007/s10600-018-2259-5.
Olennikov, D.N., Chirikova, N.K., 2017. Phlotuberosides I and II, new iridoid glycosides from *Phlomoides tuberosa*. Chem. Nat. Compd. 53, 269–272. https://doi.org/10.1007/s10600-017-1968-5.
Ono, M., Mishima, K., Yamasaki, T., Masuoka, C., Okawa, M., Kinjo, J., Ikeda, T., Nohara, T., 2009. A new lignan glucoside from the stems of *Callicarpa japonica* Thunb. var. *luxurians* Rehd. J. Nat. Med. 63, 86–90. https://doi.org/10.1007/s11418-008-0289-1.
Qiu, F., Khutsishvili, M., Fayvush, G., Tamanyan, K., Atha, D., Borris, R.P., 2019. Phytochemical investigation of *Eremostachys moluccelloides* bunge (lamiaceae). Biochem. Systemat. Ecol. 84, 17–20. https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.03.002.
Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques

Méridionales. 2 Tomes. Editions CNRS, Paris, pp. 1170.
Riaz, N., Rafiq, H., Saleem, M., Jabeen, B., Ashraf, M., Ahmed, I., Tahir, T., Tareen, R., 2019. Lipoxygenase and α-Glucosidase inhibitory constituents of *Phlomis stewartii*. Chem. Nat. Compd. 55, 493–498. https://doi.org/10.1007/s10600-019-02723-6.
Saracoglu, I., Harput, U., Calis, I., Ogihara, Y., 2002. Phenolic constituents from *Phlomis lycia*. Turk. J. Chem. 26, 133–142.
Saracoglu, I., Inoue, M., Calis, I., Ogihara, Y., 1995. Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. Biol. Pharm. Bull. 18, 1396–1400. https://doi.org/10.1248/bpb.18.1396.
Saracoglu, I., Varel, M., Calis, I., Dönmez, A., 2003. Neolignan, flavonoid, phenylethanoid and iridoid glycosides from *Phlomis integrifolia*. Turk. J. Chem. 27, 739–747.
Sarkhail, P., Nikan, M., Sarkheil, P., Gohari, A.R., Ajani, Y., Hosseini, R., Hadjiakhoondi, A., Saeidnia, S., 2014. Quantification of verbascoside in medicinal species of *Phlomis* and their genetic relationships. Daru J. Pharm. Sci. 22https://doi.org/10.1186/2008-2231-22-32. 32–32.
Sarkhail, P., Rahmanipour, S., Fadyevatan, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Amin, G., Shafiee, A., Abdollahi, M., 2007. Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. Pharmacol. Res. 56, 261–266. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.07.003.
Selenge, E., Murata, T., Kobayashi, K., Batkhuu, J., Yoshizaki, F., 2013. Flavone tetraglycosides and benzyl alcohol glycosides from the Mongolian medicinal plant *Dracocephalum ruyschiana*. J. Nat. Prod. 76, 186–193. https://doi.org/10.1021/np300609u.
Senger, D.R., Hoang, M.V., Kim, K.H., Li, C., Cao, S., 2016. Anti-inflammatory activity of *Barleria lupulina*: identification of active compounds that activate the Nrf2 cell defense pathway, organize cortical actin, reduce stress fibers, and improve cell junctions in microvascular endothelial cells. J. Ethnopharmacol. 193, 397–407. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.017.
Shang, X., Wang, J., Li, M., Miao, X., Pan, H., Yang, Y., Wang, Y., 2011. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Phlomis umbrosa* Turcz extract. Fitoterapia 82, 716–721. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.03.001.
Su, B.N., Ma, L.P., Jia, Z.J., 1998. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis artselaeri*. Planta Med. 64, 720–723. https://doi.org/10.1055/s-2006-957565.
Sudo, H., Ide, T., Otsuka, H., Hirata, E., Takushi, A., Shinzato, T., Takeda, Y., 2000. Megastigmane, benzyl and phenethyl alcohol glycosides, and 4,4'-dimethoxy-beta-truxinic acid catalpol diester from the leaves of *Premna subscandens* MERR. Chem. Pharm. Bull. 48, 542–546. https://doi.org/10.1248/cpb.48.542.
Sun, J.-M., Yang, J.-S., Zhang, H., 2007. Two new flavanone glycosides of *Jasminum lanceolarium* and their anti-oxidant activities. Chem. Pharm. Bull. 55, 474–476. https://doi.org/10.1248/cpb.55.474.
Takeda, Y., Isai, N., Masuda, T., Honda, G., Takaishi, Y., Ito, M., Otsuka, H., Ashurmetov, O.A., Khodzhimatov, O.K., 2001. Phlomisflavosides A and B, new flavonol bisglycosides from *Phlomis spinidens*. Chem. Pharm. Bull. 49, 1039–1041. https://doi.org/10.1248/cpb.49.1039.
Takeda, Y., Isai, N., Masuda, T., Otsuka, H., Honda, G., Takaishi, Y., Kiuchi, F., Ito, M., Ashurmetov, O.A., Khojimatov, O., 2002. A new megastigmane glucoside from *Phlomis spinidens*. Nat. Med. 56, 200–203.
Takeda, Y., Matsumura, H., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Takaishi, Y., Sezik, E., Yesilada, E., 2000. Phlorigidosides A–C, iridoid glucosides from *Phlomis rigida*. Phytochemistry 53, 931–935. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00431-8.
Tan, J.J., Tan, C.-H., Li, M., Jiang, S.H., Zhu, D.Y., 2007. Iridoid glycosides from *Lamiophlomis rotata*. Helv. Chim. Acta 90, 143–148. https://doi.org/10.1002/hlca.200790007.
Tanaka, T., Ikeda, T., Kaku, M., Zhu, X.H., Okawa, M., Yokomizo, K., Uyeda, M., Nohara, T., 2004. A new lignan glycoside and phenylethanoid glycosides from *Strobilanthes cusia* BREMEK. Chem. Pharm. Bull. 52, 1242–1245. https://doi.org/10.1248/cpb.52.1242.
Tanaka, T., Tanaka, O., Lin, Z.W., Zhou, J., Ageta, H., 1983. Sweet and bitter glycosides of the Chinese plant drug, Bai-yun-shen (roots of *Salvia digitaloides*). Chem. Pharm. Bull. 31, 780–783. https://doi.org/10.1248/cpb.31.780.
The Plant List, 2013. A working list of all plant species. http://www.theplantlist.org/.
Timoteo, P., Karioti, A., Leitao, S.G., Vincieri, F.F., Bilia, A.R., 2015. A validated HPLC method for the analysis of herbal teas from three chemotypes of Brazilian *Lippia alba*. Food Chem. 175, 366–373. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.129.
Viljoen, A., Mncwangi, N., Vermaak, I., 2012. Anti-inflammatory iridoids of botanical origin. Curr. Med. Chem. 19, 2104–2127. https://doi.org/10.2174/092986712800229005.
Von Poser, G.I., Henriques, A.T., Schripsema, J., Jensen, R.S., 1996. Iridoids and phenylpropanoid glucosides from *Agalinis communis* (cham. & schlecht) D'arcy and *Scoparia ericacea* cham. (Scrophulariaceae). Rev. Bras. Farm. 77, 134–136.
Wang, F., Jia, Q.-W., Yuan, Z.-H., Lv, L.-Y., Li, M., Jiang, Z.-B., Liang, D.-L., Zhang, D.-Z., 2019. An anti-inflammatory C-stiryl iridoid from *Camptosorus sibiricus* Rupr. Fitoterapia 134, 378–381. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.03.009.
Wang, Q.-S., Yang, L., Cui, W.-Y., Chen, L., Jiang, Y.-H., 2014. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of methanol extract from aerial part of *Phlomis younghusbandii* Mukerjee. PloS One 9, e89149. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089149.
Xu, X.-H., Tan, C.-H., Jiang, S.-H., Zhu, D.-Y., 2006. Debilosides A–C: three new megastigmane glucosides from *Equisetum debile*. Helv. Chim. Acta 89, 1422–1426. https://doi.org/10.1002/hlca.200690142.
Yalçin, F., Ersöz, T., Akbay, P., Calis, I., Dönmez, A., Sticher, O., 2003a. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Phlomis samia, P. monocephala and P. carica*. Turk. J. Chem. 27, 295–305.
Yalçin, F., Ersöz, T., Akbay, P., Calis, I., Dönmez, A., Sticher, O., 2003b. Phenolic, megastigmane, nucleotide, acetophenon and monoterpene glycosides from *Phlomis samia* and *P. carica*. Turk. J. Chem. 27, 703–711.
Yalçin, F., Ersöz, T., Bedir, E., Dönmez Ali, A., Stavri, M., Zloh, M., Gibbons, S., Çaliş, İ., 2006. Amanicadol, a pimarane-type diterpene from *Phlomis amanica* Vierch. Z. Naturforsch. B 61, 1433–1436. https://doi.org/10.1515/znb-2006-1118.
Yalçin, F., Kaya Bilecenoglu, D., Calis, I., Ersöz, T., Palaska, E., 2008. Determination of iridoid glycosides from four Turkish *Lamium* species by HPLC-ESI/MS. Turk. J. Chem. 32, 457–467.
Yu, Z.X., Wang, G.L., Bianba, C., Lin, R.C., 2006. Studies on chemical constituents in root of *Phlomis medicinalis* I. Zhongguo Zhongyao Zazhi 31, 656–658.
Yuasa, K., Ide, T., Otsuka, H., Takeda, Y., 1993. Premnafolioside, a new phenylethanoid, and other phenolic compounds from stems of *Premna corymbosa* var. *obtusifolia*. J. Nat. Prod. 56, 1695–1699. https://doi.org/10.1021/np50100a006.
Yue, H.-L., Zhao, X.-H., Mei, L.-J., 2013. Separation and purification of five phenylpropanoid glycosides from *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo by a macroporous resin column combined with high-speed counter-current chromatography. J. Separ. Sci. 36, 3123–3129. https://doi.org/10.1002/jssc.201300268.
Yue, J.-R., Feng, D.-Q., Xu, Y.-K., 2015. A new triterpenoid bearing octacosanoate from the stems and roots of *Clerodendrum philippinum* var. *simplex* (Verbenaceae). Nat. Prod. Res. 29, 1–7. https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1023725.
Zaabat, N., Akkal, S., Darboure, N., Laouer, H., Dijoux-Franca, M.-G., Duddeck, H., 2010. Secondary metabolites of an Algerian *Phlomis bovei* and their antioxidant activities. Chem. Nat. Compd. 46, 454–455. https://doi.org/10.1007/s10600-010-9642-1.
Zhang, C.-Z., Li, C., Feng, S.-I., Shi, J.-G., 1991. Iridoid glucosides from *Phlomis rotata*. Phytochemistry 30, 4156–4158. https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83486-5.
Zhang, C., Li, C., 1996. Iridoid glucosides from *Phlomis mongolica* turcz. Zhongguo Zhongyao Zazhi 21 (36–37), 64.
Zhang, F., Wu, Z.-J., Sun, L.-N., Wang, J., Tao, X., Chen, W.-S., 2012. Iridoid glucosides and a C13-norisoprenoid from *Lamiophlomis rotata* and their effects on NF-κB activation. Bioorg. Med. Chem. Lett 22, 4447–4452. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.04.087.
Zhang, J., Huang, Z., Huo, H.X., Li, Y.T., Pang, D.R., Zheng, J., Zhang, Q., Zhao, Y.F., Tu, P.F., Li, J., 2015. Chemical constituents from *Lagopsis supina* (steph.). Ik.-Gal. ex Knorr. Biochem. Syst. Ecol. 61, 424–428. https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.07.010.
Zhang, M., Ren, X., Yue, S.-J., Zhao, Q., Shao, C.-L., Wang, C., 2019. Simultaneous quantification of four phenylethanoid glycosides in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study of *Acanthus Ilicifolius* Herb. Molecules 24, 3117. https://doi.org/10.3390/molecules24173117.
Zhang, Q., Lei, H., Penglong, W., Ma, Z.-Q., Zhang, Y., Wu, J.-J., Nie, J., Chen, S.-J., Han, W.-J., Wang, Q., Chen, D.-Y., Cai, C.-K., Li, Q., 2017. Bioactive components from qingwen baidu decoction against LPS-induced acute lung injury in rats. Molecules 22, 692. https://doi.org/10.3390/molecules22050692.
Zhang, Q., Mao, Z., Zhang, Q., Qiu, J., Jia, Z., Qin, L., 2018. Acute and sub-chronic toxicological studies of the iridoid glycosides extract of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo in rats. Regul. Toxicol. Pharmacol. 92, 315–323. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.12.018.
Zhang, Y., Cichewicz, R.H., Nair, M.G., 2004. Lipid peroxidation inhibitory compounds from daylily (*Hemerocallis fulva*) leaves. Life Sci. 75, 753–763. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.03.002.
Zhang, Z.-X., Xie, W.D., Jia, Z.-J., 2008. Glycosides from two *Pedicularis* species. Biochem. Systemat. Ecol. 36, 467–472. https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.12.001.

RESUMES

RESUME

Introduction

Depuis fort longtemps, l'utilisation des plantes médicinales est connue pour améliorer la santé de l'homme. Actuellement, peu d'espèces ont été soumises à une évaluation de leurs activités biologiques.

L'objectif principal de notre travail est de vérifier l'usage traditionnel d'une plante cicatrisante utilisée par la population locale à travers une recherche phytochimique et pharmacologique.

Matériels et méthodes

L'enquête ethnobotanique sur les plantes cicatrisantes utilisées en médecine traditionnelle a été réalisée dans 16 villes algériennes, auprès de 1850 habitants et 190 herboristes. Sur la base de cette enquête, une plante peu étudiée a été choisie dans le but de vérifier son usage traditionnel. Une étude botanique a été menée pour l'identifier.

L'évaluation de l'activité cicatrisante de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de la plante sélectionnée chez les rats Wistar a été réalisée selon le modèle de plaie par excision.

Une étude phytochimique des feuilles et des racines de la plante choisie a été menée dans le but d'isoler les phytoconstituants responsables de l'activité cicatrisante. Leurs structures chimiques ont été élucidées par l'analyse de données spectroscopiques RMN 1D-(^{1}H, ^{13}C), RMN 2D et la spectrométrie de masse (ESI- et HR ESI- MS). L'évaluation de l'activité antioxydante des composés isolés a été menée dans le but de tirer les relations structures-activités.

Résultats

L'enquête ethnobotanique a fait ressortir 96 plantes réputées cicatrisantes appartenant à 45 familles. La plante sélectionnée est le *Phlomis bovei* de Noé, Lamiaceae. Il s'agit d'une plante endémique, peu étudiée sur le plan phytochimique et pharmacologique.

L'évaluation de l'activité cicatrisante a montré une amélioration significative qui est estimée par une réduction de la surface de cicatrisation d'environ 5 % par rapport au groupe témoin et un gain de cinq (5) jours dans le temps d'épithélialisation avec une cicatrice de meilleure qualité sur le plan histologique.

L'étude phytochimique des feuilles et des racines de *P.bovei* a conduit à l'isolement de seize (16) composés, dont trois iridoïdes, deux mégastigmanes, cinq phénylpropanoïdes, quatre lignanes, un nortriterpène et un phényle glucoside. L'évaluation de l'activité antioxydante de neuf composés isolés a montré que l'activité du verbascoside était supérieure à celle de tous les composés testés avec la plus faible valeur IC50 nécessaire pour piéger 50% du radical libre DPPH.

Conclusion

L'isolement des principes actifs issues de plantes vont probablement être les médicaments de demain et pourraient défier les thérapeutiques d'aujourd'hui.

Mots clés : enquête ethnobotanique**,** *Phlomis bovei* de Noé, substances bioactives, activité antioxydante, activité cicatrisante.

ABSTRACT

Introduction

For a long time, the use of medicinal plants has been known to improve human health. Currently, few species have been subjected to an assessment of their biological activities.

The main objective of our work is to verify the traditional use of a healing plant used by the local population through phytochemical and pharmacological research.

Materials and methods

The ethnobotanical survey on healing plants used in traditional medicine was carried out in sixteen (16) Algerian cities among 1850 inhabitants and 190 herbalists. Based on this survey, a plant that had been little studied was chosen in order to verify its traditional use. A botanical study was carried out to identify it.

The healing activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of the selected plant was evaluated according to the excision wound model in Wistar rats.

The phytochemical study of the leaves and roots of the selected plant was conducted to isolate the phytoconstituents responsible for the healing activity. Their chemical structures were elucidated by analysis of spectroscopic data RMN 1D- (^{1}H, ^{13}C), RMN 2D (COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HMBC), and mass spectrometry (ESI- and HR ESI- MS).

The evaluation of the antioxidant activity of isolated compounds was conducted to determine the structure-activity relationships.

Results

The ethnobotanical survey showed 96 plants reputed to be healing plants belonging to 45 families. The selected plant is *Phlomis bovei* de Noé, Lamiaceae. It is an endemic plant, little studied on phytochemical and pharmacological levels.

The evaluation of the healing activity showed a significant improvement which is estimated by a reduction of the healing surface of about 5% compared to the control group and a gain of five (5) days in epithelialization time with a scar having a better quality on the histological level.

A phytochemical study of the leaves and roots of *P. bovei* led to the isolation of sixteen (16) compounds, including three iridoids, two megastigmans, five phenylpropanoids, four lignans, one nortriterpene and one phenyl glucoside. The evaluation of the antioxidant activity of nine isolated compounds showed that the activity of the verbascoside was superior to all tested compounds with the lowest IC50 value necessary to trap 50% of the free radical DPPH.

Conclusion

The isolation of active compounds from plants is likely to be the drugs of tomorrow and may challenge today's therapeutics.

Key words : ethnobotanical survey, *Phlomis bovei* de Noé, bioactive substances, antioxidant activity, healing activity.

ملخص

مقدمة

منذ زمن طويل، من المعروف أن استخدام النباتات الطبية يحسن صحة الإنسان. حاليا، تم إخضاع القليل من الأنواع لتقييم أنشطتها البيولوجية.

الهدف الرئيسي من عملنا هو التحقق من استخدام نبتة مستعملة تقليديا في التئام الجروح من طرف السكان المحليين من خلال البحوث النباتية الكيميائية والدوائية.

الوسائل والطرق

الاستطلاع العرقي النباتي على النباتات المستعملة تقليديا في التئام الجروح أجري في 16 مدينة جزائرية على 1850 من السكان المحليين و 190 عشاب. بناءًا على هذا الاستطلاع، تم اختيار نبتة لم تجرى عليها دراسات عديدة بهدف التحقق من استخدامها التقليدي. تم إجراء دراسة نباتية للتعرف عليها.

تم تقييم نشاط المستخلص الكحولي المائي لأوراق النبتة المختارة في التئام الجروح على فئران التجارب من نوع ويستار وفقًا لنموذج استئصال الجلد. تم إجراء دراسة نباتية كيميائية لأوراق وجذور النبتة المختارة بهدف عزل المكونات النباتية المسؤولة عن نشاط التئام الجروح. وقد تم تحديد بنيتهم الكيميائية عن طريق تحليل البيانات الطيفية للرنين المغناطيسي RMN 1D-(^{1}H, ^{13}C), RMN2Dوقياس الطيف الكتلي (ESI -HR ESI-MS) و تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمركبات المعزولة بهدف تحديد العلاقات بين البنيات الكيمائية و الأنشطة.

النتائج

كشف الاستطلاع العرقي النباتي عن وجود 96 نبتًة لديها سمعة في التئام الجروح تنتمي إلى 45 عائلة. النبتة المختارة هي *Phlomis bovei* de Noé, Lamiaceae، إنها نبتة مستوطنة في إفريقيا الشمالية، أجريت عليها دراسات قليلة من الناحية الكيمياء والدوائية

أظهر تقييم نشاط التئام الجروح تحسنًا ملحوظا من خلال تقليل سطح مساحة التئام الجروح بحوالي5٪ تقريبًا مقارنة بالمجموعة المرجعية وكسب خمسة (5) أيام في فترة الاندمال مع ندبة ذات نوعية أفضل على المستوى النسيجي. أدت الدراسة الكيميائية النباتية لأوراق وجذور *P.bovei* إلى عزل ستة عشر مركبًا، منها ثلاثة iridoids، اثنين mégastigmanes، خمسة phenylpropanoids، أربعة lignans، واحدة nortriterpene و واحدة phenyl glucoside.أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة لتسعة مركبات معزولة أن نشاط verbascoside كان أعلى من كل المركبات المجربة بأقل قيمة IC50الضرورية لاحتجاز 50 ٪ من الجذور الحرة لـ .DPPH

الخاتمة

عزل المكونات النشطة للنباتات المستعملة تقليديا في التئام الجروح من المحتمل جدا أن تكون من أدوية الغد وقد تتحدى علاجات اليوم.

الكلمات المفتاحية: استطلاع عرقي نباتي ، *Phlomis bovei* de Noé، مواد نشطة بيولوجيا ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط التئام الجروح.