



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Frères Mentouri, Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



N° d'ordre : 04/Bio/2021  
N° de série : 93/D3C/2021

*Thèse pour l'obtention du diplôme de*

**DOCTORAT 3<sup>ème</sup> CYCLE**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

*Intitulée*

**Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de  
Constantine-Mila et valorisation phytochimique des  
plantes : *Bellevalia mauritanica* Pomel ; Endémique de  
l'Afrique du Nord et *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter**

*Présentée et soutenue le : 25/10/2021*

**Par M<sup>lle</sup> Ouelbani Rayene**

**Président :** CHIKHI Abdelouahab ..... Prof. Université Frères Mentouri Constantine 1  
**Directeur de thèses :** KHELIFI Douadi..... Prof. Université Frères Mentouri Constantine 1  
**Co-directeur de thèse :** MOUAS T. Nardjes... MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1  
**Examinatrice :** BELLIL Ines..... MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1  
**Examineur :** BOUKELOUA Ahmed..... MCA. Université Larbi Ben M'hidi. Oum Bouaghi

**Année universitaire : 2021-2022**

*Je dédie ce travail*

*A Dieu miséricordieux qui m'a armé de courage et de volonté pour réaliser ce travail,  
A mes adorables grands parents maternels qui tout le temps étaient à mes côtés que dieu les  
garde pour moi.*

*A mes chers parents qui n'ont ménagé aucun effort pour me soutenir et m'aider afin  
d'effectuer cette thèse.*

*A ma petite sœur Abir Djoumana à qui je souhaite beaucoup de succès dans ses études.*

*Sans oublier mes tantes et mes oncles et surtout ma tante Karima à qui je souhaite un  
prompt rétablissement, ainsi que son époux,*

*A mes cousins et cousines*

*A mes amies sans exceptions, à tous les doctorants qui m'ont aidé pour réaliser ce travail ainsi  
que Bramki Amina, Khelalfa Khaoula, Toumi Mohammed essedik, Ahmed chaouèche  
Maroua, et Bendamene samia*

*A la mémoire de mes chers et regrettés grands-parents paternels.*

*A la mémoire de mon cher et regretté oncle Abdelhamid Ouelbani*

*Rayene Ouelbani*

## REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au niveau du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV) sous la direction du Professeur KHELIFI Douadi et au niveau du laboratoire DUBTAM, Dicle university, Diyarbakir sous la direction du Docteur Mustafa Abdullah YILMAZ dans le cadre du Programme National Exceptionnel (PNE).

Louange à DIEU le miséricordieux, de m'avoir armé de courage et de volonté pour poursuivre mon travail de thèse.

J'exprime ma profonde gratitude envers la direction générale de la recherche scientifique et du développement technologique (DGRSDT), ainsi que le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, qui m'ont octroyé une bourse dans le cadre du Programme National Exceptionnel (PNE) au titre de l'année universitaire 2019-2020.

Ce travail étant réalisé grâce au concours de plusieurs personnes, à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je tiens à remercier monsieur le Professeur KHELIFI Douadi de m'avoir accueilli dans son laboratoire, de m'avoir dirigé et orienté, je le remercie notamment pour ces précieux conseils tout au long de mon travail de thèse.

Je tiens à remercier vivement le Docteur Mustafa Abdullah YILMAZ de m'avoir beaucoup aidé, je le remercie également pour sa gentillesse et sa disponibilité, pendant la réalisation de l'identification structurale des extraits et avec qui j'ai appris beaucoup de choses, qui me seront très utiles dans ma carrière de recherche scientifique.

Je tiens à remercier le professeur CHIKHI Abdelouahab de m'avoir honoré de présider mon jury de thèse. Je vous remercie également pour vos encouragements tout au long de mon cursus.

Je remercie vivement le Docteur BELLIL Ines qui a accepté de juger mon travail de thèse elle était également très coopérative malgré ses occupations.

Je remercie également le Docteur BOUKELOUA Ahmed d'avoir accepté de faire partie du jury de soutenance.

J'adresse mes vifs remerciements à monsieur le Docteur BENSOUICI Chawki pour son aide, pendant la réalisation de la partie biologique de ma thèse, ainsi que les ingénieurs du laboratoire de biochimie du CRBt de Constantine.

Mes sincères remerciements se dirigent également :

A toute l'équipe du laboratoire GBBV, aux ingénieurs et aux docteurs, particulièrement : les Docteurs MEDOURI, BECHKRI, MEDOUKALI et la doctorante BENOUCHE Djamila.

A toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, doctorants et ingénieurs des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine 1.

A monsieur BOUTAMINA Ali qui m'a beaucoup aidé sur le terrain, je le remercie pour sa gentillesse et sa disponibilité.

A ma famille et particulièrement mes parents pour leur soutien inconditionnel et pour leur contribution à l'obtention de mes plantes, qu'ils trouvent ici ma reconnaissance et ma gratitude.

A ma collègue et amie mademoiselle BENSARI Souheir, je la remercie pour son soutien moral et intellectuel, pour ses encouragements qui ont été d'une grande aide.

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Les différents caractères distinguant l'espèce <i>B. mauritanica</i> Pomel.....	11
<b>Tableau 2.</b> Les produits isolés des espèces du genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr.....	14
<b>Tableau 3.</b> Les principaux antibiotiques et leur cible d'action.....	23
<b>Tableau 4.</b> Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	29
<b>Tableau 5.</b> Données démographique des informateurs interrogés et le nombre de plantes citées.....	50
<b>Tableau 6.</b> Catégories des maladies traitées par les plantes médicinales les plus largement utilisées avec le facteur de consensus informateur.....	59
<b>Tableau 7.</b> Niveau de fidélité des plantes les plus citées.....	61
<b>Tableau 8.</b> Liste des plantes médicinales les plus citées et les plus utilisées par les informateurs avec la valeur d'usage (UV).....	62
<b>Tableau 9.</b> Résultats du screening phytochimique des différents extraits de <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	67
<b>Tableau 10.</b> Contenu phénolique des extraits de la plante <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	67
<b>Tableau 11.</b> Screening des phytoconstituants présents dans les extraits de la plante <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel par HPLC-IT-TOF-MS.....	72
<b>Tableau 12.</b> Paramètres analytiques de la méthode LC-MS/MS.....	74
<b>Tableau 13.</b> Activité Antyoxydante de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel par DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> , Superoxyde DMSO alcalin et CUPRAC <sup>a</sup> .....	75
<b>Tableau 14.</b> Zones d'inhibition des extraits actifs <sup>a</sup> de la plante <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel et des antibiotiques <sup>b</sup> testés contre des souches pathogènes.....	87

## Liste des figures

---

<b>Fig.1.</b> Les squelettes carbonés des homoisoflavonoïdes.....	8
<b>Fig. 2.</b> Carte géographique montrant la distribution native du genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr. à travers le monde.....	9
<b>Fig. 3.</b> dessin représentant l'espèce <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	10
<b>Fig. 4.</b> <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	10
<b>Fig. 5.</b> Photographie <i>In situ</i> de l'espèce <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	11
<b>Fig. 6.</b> La distribution géographique de l'espèce <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	13
<b>Fig. 7.</b> Structure chimique de la Vitamine E.....	19
<b>Fig. 8.</b> structure chimique de la Vitamine C.....	19
<b>Fig. 9.</b> Structure chimique du glutathion.....	19
<b>Fig. 10.</b> Structure chimique du $\beta$ -carotène.....	20
<b>Fig.11.</b> La fréquence d'utilisation des méthodes anti-oxydantes <i>In vitro</i> .....	21
<b>Fig. 12.</b> Les cibles possibles des métabolites secondaires des plantes.....	22
<b>Fig. 13.</b> Structure tridimensionnelle de la Tc AChE montrant la sérine catalytique (Ser200)	26
<b>Fig. 14.</b> La gorge menant au site actif de la Tc AChE.....	26
<b>Fig. 15.</b> Paire stéréoscopique du site actif de la BChE vue de l'entrée de la gorge.....	28
<b>Fig. 16.</b> Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman.....	28
<b>Fig. 17.</b> La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
<b>Fig. 18.</b> La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	41
<b>Fig. 19.</b> Les familles botaniques des plantes citées.....	52
<b>Fig. 20.</b> Les parties des plantes les plus utilisées par les informateurs à des fins thérapeutiques...	53
<b>Fig. 21.</b> Les méthodes de préparation les plus utilisées par les informateurs.....	54
<b>Fig. 22.</b> CCM de l'extrait chloroformique dans un système d'élution Hexane/acétate d'éthyle après révélation par une solution d'acide sulfurique/éthanol (10:90).....	65
<b>Fig. 23.</b> CCM de l'extrait chloroformique dans un système d'élution Hexane/acétate d'éthyle/MeOH après révélation par une solution d'acide sulfurique/éthanol (10:90).....	65
<b>Fig. 24.</b> CCM des extraits acétate d'éthyle et Chloroformique dans un système d'élution Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH et Hex/AcOEt respectivement après révélation par une solution d'Anis Aldehyde.....	66
<b>Fig. 25.</b> CCM des extraits bruts, brut de la partie aérienne, CHCl <sub>3</sub> , AcOEt, et BuOH sous UV 365 nm dans un système d'élution (CHCl <sub>3</sub> / MeOH/H <sub>2</sub> O).....	66
<b>Fig.26.</b> Spectre MS et masse spécifique exacte du composé 1 dans l'extrait CHCl <sub>3</sub> (A : spectre MS1 exacte. B et C : spectres des masses exactes mesurée et prédite par LC-ESI-IT-TOF	

## Liste des figures

---

respectivement).....	68
<b>Fig. 27.</b> Chromatogramme LC-MS-IT-TOF de la phase CHCl <sub>3</sub> de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel.....	69
<b>Fig. 28.</b> Chromatogramme LC- MS IT- TOF de la phase BuOHde la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel.....	69
<b>Fig. 29.</b> Chromatogramme LC- MS IT- TOF de la phase AcOEt de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel.....	69
<b>Fig. 30.</b> Chromatogramme LC-MS/MS de la phase AcOEt de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel....	70
<b>Fig. 31.</b> Chromatogramme LC-MS/MS de la phase BuOH de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel....	71
<b>Fig. 32.</b> Chromatogramme LC-MS/MS de la phase CHCl <sub>3</sub> de la plante <i>B. mauritanica</i> Pomel....	71
<b>Fig. 33a.</b> Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC <sub>50</sub> des extraits et des standards BHA, BHT et $\alpha$ -tocophérol dans le test de DPPH <sup>•</sup> .....	76
<b>Fig. 33b.</b> Activité antiradicalaire des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards dans le test du DPPH <sup>•</sup> .....	76
<b>Fig. 33c.</b> Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards a 200, 400 et 800 $\mu$ g/ml dans le test du DPPH <sup>•</sup> .....	77
<b>Fig. 34a.</b> Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC <sub>50</sub> des extraits et des standards BHA et BHT dans le test ABTS <sup>•+</sup> .....	78
<b>Fig. 34b.</b> Activité antiradicalaire des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards dans le test ABTS <sup>•+</sup> .....	78
<b>Fig. 34c.</b> Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards a 200, 400 et 800 $\mu$ g/ml dans le test ABTS <sup>•+</sup> .....	78
<b>Fig. 35a.</b> Analyse de la variance ANOVA des IC <sub>50</sub> des extraits et des standards : acide ascorbique $\alpha$ -tocophérol dans le test du superoxyde DMSO alcalin.....	79
<b>Fig. 35b.</b> Activité antiradicalaire des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards dans le test du DMSO alcalin.....	79
<b>Fig. 35c.</b> Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards a 200, 400 et 400 $\mu$ g/ml dans le test du DMSO alcalin.....	80
<b>Fig. 36a.</b> Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des A <sub>0,5</sub> des extraits et des standards BHA et BHT dans le test CUPRAC.....	81
<b>Fig. 36b.</b> Activité antioxydante des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards dans le test CUPRAC.....	81

## Liste des figures

---

<b>Fig. 36c.</b> Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards a 200, 400 et 800 $\mu\text{g/ml}$ dans le test CUPRAC.....	82
<b>Fig. 37a.</b> Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante ( $\text{CI}_{50}$ ) dans le test $\text{ABTS}^{+\cdot}$ .....	83
<b>Fig. 37b.</b> Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante ( $\text{CI}_{50}$ ) dans le test $\text{DPPH}^{\cdot}$ .....	83
<b>Fig. 37c.</b> Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante ( $\text{CI}_{50}$ ) dans le test CUPRAC.....	83
<b>Fig. 37d.</b> Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante ( $\text{CI}_{50}$ ) dans le test DMSO alcalin.....	83
<b>Fig. 38a.</b> Résultats de l'analyse de la variance t-test dans l'activité anti-acétylcholinestérase.....	84
<b>Fig. 38b.</b> Pourcentages d'inhibition de la phase EtOAc dérivée de l'extrait EBBR de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards dans l'activité anti-acétylcholinestérase.....	85
<b>Fig. 38c.</b> Pourcentages d'inhibition de la phase EtOAc dérivée de l'extrait EBBR de la plantes <i>B. mauritanica</i> Pomel et des standards a 50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$ dans l'activité anti-acétylcholinestérase.....	85



## Liste des abréviations

---

**A<sub>0.50</sub>**: absorbance à 0.50

**ABTS**: 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

**ACh** : acétylcholine

**AChE**: acétylcholinestérase

**AcOEt**: phase acétate d'éthyle

**ADN**: acide désoxyribonucléique

**AP-1** : protéine activatrice 1 (facteur de transcription)

**ARN** : acide ribonucléique

**ATCC**: american type culture collection

**ATCI**: acétylthiocoline iodide

**BchE**: butyrylcholinésterase

**BHA**: butylhydroxyanisole

**BHT**: butylhydroxytoluène

**BuOH**: phase butanolique

**Ca<sup>++</sup>**: calcium

**CBM** : carbamates

**CHCl<sub>3</sub>**: phase chloroformique

**CMB** : concentration minimale bactéricide

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**Cu<sup>2+</sup>**:cuivre

**CUPRAC**: cupric reducing antioxidant capacity

**DMSO**: diméthylsulfoxyde

**DPPH**: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

**DTNB**: 5,5'-dithiobis (2-nitro-benzoic acid)

**EBBR**: extrait brut de la partie souterraine

**EBPA**: extrait brut de la partie aérienne

**FC**: frequency citation

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**FL**: fidelity level

**FMN**: flavine mononucleotide

**GSH**: glutathion

**GSSG**: glutathion oxydé

**GST**: glutathion-s-transférase

**GSTP1** : glutathion-s-transférase P1 (gène codant pour le glutathion P)

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

**IC<sub>50</sub>**: concentration inhibitrice 50 %

**ICF** : informant consensus factor

**Id**: identifiant

**IJ** : indice de jaccard

**IL** : interleukine

**K<sub>cat</sub>** : constante catalytique

**K<sub>m</sub>** : constante de Michaelis

**LC-MS/MS** : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

**LC-MS-IT-TOF** : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à trappe d'ion et temps de vol.

**MA** : maladie d'alzheimer

**Mn** : manganèse

**NADPH** : nicotine adenine dinucleotide phosphate

**NBT** : nitro blue tetrazolium

**NF- $\kappa$ B** : nuclear factor-kappa B (facteur de transcription)

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : anion superoxyde

**O<sub>2</sub>** : oxygène

**·OH** : radical hydroxyle

**OP**: organophosphoré

**ORAC**: oxygen radical absorbance capacity

**PDB**: protein data bank

**Phe**: phenylalanine

**PRX** : peroxyredoxine

**RFC**: relative frequency citation

**RI** : relative importance

**ROS** : reactive oxygen species

**Ser**: serine

**SOD** : superoxyde dismutase

**Tc AChE** : *Torpedo californica*acétylcholinestérase

**TEAC:** Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

**TNF- $\alpha$ :** Tumor Necrosis Factor (facteur de nécrose tumoral)

**Trp:** Tryptophane

**TRX:** thioredoxine

**Tyr:** Tyrosine

**UV:** Use Value

**Zn :** Zinc

## Table des matières

---

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Partie I : revue bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : ethnobotanique et ethnopharmacologie</b>	
I- Définition des plantes médicinales.....	3
II- La Phytothérapie.....	3
II-1-1- Etymologie.....	3
II-1-2- Historique de la phytothérapie.....	3
III- Ethnobotanique et ethnopharmacologie.....	4
III-1- L'ethnobotanique.....	4
III-2- L'ethnopharmacologie.....	4
III-3- Les enquêtes ethnobotaniques.....	4
III-3-1- Le questionnaire.....	4
III-3-2- Zone d'étude.....	5
III-3-3- Indices quantitatifs.....	5
• Informant consensus factor (ICF).....	5
• Fidelity level (FL).....	5
• Frequency citation et relative frequency citation (FC et RFC).....	5
• Use value (UV).....	5
• Indice de Jaccard.....	5
• Relative importance (RI).....	6
<b>Chapitre II : description botanique et généralités sur la plante <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel</b>	
I- L'ordre des Asparagales.....	7
II- Différentes classifications du genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr.....	7
II-1- La famille des Asparagaceae .....	7
II-2- Intérêt pharmacologique de la famille des Asparagaceae.....	8
II-3- Les homoisoflavonoides (chromanones).....	8
II-4- Le genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr.....	9
II-4-1- Distribution géographique du genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr.....	9
II-4-2- Genres voisins.....	10
III- L'espèce <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	10
III-1- Habitat et distribution géographique de <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	12

III-2- Position systématique de l'espèce <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	13
IV- Phytochimie et activités biologiques des espèces du genre <i>Bellevalia</i> Lapeyr.....	13
<b>Chapitre III : activités biologiques et méthodes hybrides chromatographiques</b>	
I-Activité anti-oxydante.....	15
I-1- Le stress oxydant.....	15
I-2- Les espèces réactives d'oxygènes (ROS).....	15
I-2-1- Les sources endogènes des ROS.....	15
• Les radicaux libres.....	15
• Les espèces non radicalaires.....	15
I-2-2- Les sources exogènes des ROS.....	16
I-3- Les antioxydants.....	16
I-3-1- Les antioxydants enzymatiques.....	16
• Les superoxydes dismutases (SODs, EC 1.15.1.11).....	16
• La catalase (EC 1.11.1.6).....	17
• La glutathion peroxydase (GSH-Pxs).....	17
• Les enzymes contenant le thiol.....	17
I-3-2- Les antioxydants non enzymatiques.....	18
• La vitamine C (Acide ascorbique).....	18
• La vitamine E ( $\alpha$ -Tocophérol).....	18
• Le glutathion.....	19
• Les caroténoïdes ( $\beta$ -Carotène).....	19
I-4- Les cibles biologiques des ROS.....	20
I-5- Les méthodes d'évaluation de l'activité anti-radicalaire.....	21
II- Activité antimicrobienne.....	22
II-1- Le mécanisme d'action antimicrobien des métabolites secondaires des plantes.....	22
II-2- Les produits naturels antimicrobiens.....	22
II-3- Les antibiotiques.....	23
II-4-La résistance aux antibiotiques.....	23
II-4-1- La résistance bactérienne naturelle.....	24
II-4-2- La résistance bactérienne acquise.....	24

II-5- Méthodes d'évaluation de l'activité anti microbienne.....	24
III- Activité anticholinestérase.....	24
III-1- L'acétylcholinestérase (AChE).....	25
III-1-1- Fonction cholinergique.....	25
III-1-2- Structure tridimensionnelle.....	25
III-1-3- Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	26
III-2- La butyrylcholinestérase.....	26
III-2-1-Le rôle de la butyrylcholinestérase.....	27
III-2-2- Structure tridimensionnelle de la butyrylcholinestérase.....	27
III-3- L'évaluation de l'activité anti-cholinestérase.....	28
• Autres méthodes d'évaluation de l'activité anti-Alzheimer.....	28
III-4- Les anti Alzheimer naturels.....	29
IV- La spectrométrie de masse.....	29
VI-1-Les différentes techniques d'ionisation en spectrométrie de masse.....	29
VI-2-La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS).....	30
VI-3- La chromatographie liquide couplée à la masse-trappe d'ion-temps de vol (LC-MS-IT-TOF).....	30

## **Partie II : partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

#### **Chapitre I : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

I- Interview.....	32
II- Zone d'étude.....	33
III-Indices quantitatifs.....	34
• Informant consensus factor (ICF).....	35
• Fidelity level (FL).....	35
• Frequency citation et relative frequency citation (FC et RFC).....	35
• Use value (UV).....	35

#### **Chapitre II : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

I- Matériel végétal.....	36
II- Schéma d'extraction de la plante <i>Bellevalia mauritanica</i> Pomel.....	36
II-1- Partie souterraine.....	36

II-2- Partie aérienne.....	37
III- Screening phytochimique préliminaire.....	38
III-1- La mise en évidence des saponines.....	38
III-2- La mise en évidence des triterpènes.....	38
III-3- La mise en évidence des anthrones et anthranols, quinones libres, dérivés anthracéniques et coumarines.....	38
III-4- la mise en évidence des tanins.....	38
IV- Dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes.....	39
IV-1- Polyphénols totaux.....	39
• Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	39
IV-2- Flavonoïdes totaux.....	40
• Préparation de la gamme d'étalonnage de la Quercetine.....	41
V- Activités biologiques.....	41
V-1- Activité antioxydante.....	41
V-1-1- Activité de piégeage du DPPH'.....	41
V-1-2- Activité de piégeage de l'ABTS <sup>+</sup> .....	42
V-1-3- Superoxide DMSO alcalin.....	42
V-1-4- Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC).....	43
V-2- Activité anticholinestérase.....	44
V-3- Activité antibactérienne.....	44
• Préparation des extraits et des disques.....	44
VI- Conditions de l'analyse LC-MS/MS.....	45
• Préparation des extraits.....	45
VII-Conditions de l'analyse LC-MS-IT-TOF.....	46
• Préparation des extraits.....	46

## **Résultats et discussion**

### **Chapitre I**

I- Caractéristiques démographiques des informateurs.....	49
II- La diversité des plantes médicinales.....	50
III- Les parties utilisées des plantes médicinales citées.....	52
IV- Les méthodes de préparation.....	53
V- Les espèces les plus fréquemment citées et leurs usages médicinaux.....	54

VI- Nouveaux résultats.....	55
VII-Analyse quantitatives des données ethnométricales.....	58
VII-1- Facteur de Consensus Informateur (ICF).....	58
VII-2- Fréquence Relative (RFC).....	60
VII-3- Niveau de Fidélité (FL).....	60
VII-4- Valeur d'usage (UV).....	62

## **Chapitre II**

I- Screening préliminaire sur plaque CCM.....	65
I-1- La mise en évidence des saponines.....	65
I-2- La mise en évidence des triterpènes.....	66
I-3- La mise en évidence des anthrones et anthranols, quinones libres, dérivés anthracéniques et coumarines.....	66
II- Contenu phénolique.....	67
III- Résultats HPLC-MS-IT-TOF.....	68
IV- Résultats LC-MS/MS.....	70
V- Résultats de l'évaluation de l'activité biologique.....	75
V-1- L'activité antioxydante.....	75
V-1-1- Corrélation entre pouvoir antioxydant et teneur en polyphénols.....	82
V-2- L'activité anti-cholinestérase.....	84
V-3- L'activité antibactérienne.....	85
<b>Synthèse générale.....</b>	<b>88</b>
<b>Conclusions et perspectives .....</b>	<b>92</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>94</b>

## **Annexes**

### **Résumés**



**PREMIERE PARTIE :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

# INTRODUCTION

**« La nature est une vaste apothicairerie »**

**Théophraste Bombast von hoheinheim, connu sous le nom de Paracelse (1493-1541)**

### Introduction générale

Depuis la nuit des temps, il existe une relation entre le végétal et l'homme, ce dernier l'a utilisé pour se nourrir puis pour se soigner, et cela afin d'échapper aux maladies dans le but de prolonger son espérance de vie.

Ces dernières années, les plantes aromatiques et médicinales ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique, en effet les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de réaliser de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits en particulier dans les domaines nutraceutiques, pharmaceutique, la cosmétique et les parfums (Herzi, 2013). Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Ces plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de celles-ci (Chaabi, 2008).

Malgré les progrès réalisés en médecine, la majorité de la population et en particulier les pays en voie de développement ont recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes à des fins thérapeutiques (Baba Aissa, 1991 ; Boudjelal *et al.*, 2013), d'autant plus que ce type de médication est moins onéreux par rapport aux médicaments synthétiques. Cette catégorie de personnes a prouvé l'intérêt thérapeutique et l'efficacité de ces plantes face à plusieurs maladies, ce qui a encouragé les scientifiques à les mettre en valeur par des études phytochimiques, pharmacologiques...etc.

Nous avons effectué une enquête ethnobotanique dans ce sens, qui regroupe les plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila et à partir de laquelle nous avons tiré plusieurs conclusions (Ouelbani *et al.*, 2016). Ainsi la situation géographique privilégiée de l'Algérie permet à cette dernière une grande richesse floristique, en 1964 et d'après Pierre Quezel la flore de l'Algérie, Sahara exclu, comprend environ 2840 espèces, sur ces 2840 espèces, 247 doivent être considérées comme étant endémiques de cette région, soit un pourcentage voisin de 8,6 %, néanmoins actuellement on compte 4449 espèces dont 6,5 % sont endémiques (Dobignard et Chatelain, 2010-2012). C'est la raison pour laquelle nous trouvons que cette richesse mérite d'être étudiée et valorisée sur le plan phytochimique.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila et d'une recherche de valorisation d'une biomasse endémique

## Introduction générale

---

rare et peu connue : *Bellevalia mauritanica* Pomel, endémique de l'Afrique du Nord, appartenant au genre *Bellevalia* Lapeyr. sachant qu'elle est étudiée pour la première fois sur le plan phytochimique.

La démarche adoptée pour la réalisation de cette étude a été la suivante :

- Partie I : synthèse bibliographique regroupant le nécessaire des connaissances théoriques en rapport avec le thème et qui comporte trois chapitres : le premier traitant des notions sur l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie, le deuxième comporte toutes les informations concernant la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel ainsi que la description botanique, enfin le troisième consacré à la bibliographie en relation avec les activités biologiques ainsi que les méthodes hybrides chromatographiques réalisées dans la présente étude.
- Partie II : la partie expérimentale elle-même divisée en deux chapitres, un chapitre consacré au criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila et un deuxième consacré à l'étude phytochimique de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel et l'évaluation de ses activités biologiques.

Enfin les conclusions à tirer et les recommandations à proposer seront fonction des résultats.

**Chapitre I :**  
**Ethnobotanique &**  
**ethnopharmacologie**

## I- Définition des plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc...) peut être employée dans le but de se soigner ([www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com)).

## II- La Phytothérapie

### II-1-Etymologie

Le terme phytothérapie vient du grec *phyton* qui signifie « plante » et de *therapin* qui signifie « soigner ». C'est l'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique, sans tenir compte des modalités d'utilisation (Morel, 2008).

### II-2- Historique de la phytothérapie

Claude Bourguignon estimait que l'homme du paléolithique consommait environ dix milles espèces animales et végétales différentes, tandis qu'aujourd'hui dans les pays civilisés, 90 % de la population n'en consomment qu'une quarantaine contre 1500 à 5000 molécules d'additifs chimiques. Le savoir se constitue peu à peu au cours d'une longue période jusqu'à 4000 ans environ, qui éloigne l'attribution de fondation de la phytothérapie par l'homme préhistorique (Morel, 2008).

Les plus anciens écrits mésopotamiens égyptiens, indiens, chinois remontent à 3000 à 4000 ans avant l'époque actuelle. Par exemple au niveau du « british museum » il a été trouvé que les sumériens ont noté quelques propriétés thérapeutiques de quelques plantes médicinales (jusquiame, mandragore et d'opium) (Morel, 2008).

*Aesculus hyppocstanum* par rapport à Esculape héros de la mythologie grecque dont le nom a été accordé au « marronnier d'inde ». Hippocrate (V<sup>ème</sup> siècle avant J.C. a pu faire ressortir la médecine du contexte magico-religieux, en décrivant les causes et le traitement de plusieurs maladies. A Rome, Claude Galien (129-201) donna son nom à la « galénique » art de confectionner les médicaments sous plusieurs formes, il élaborait également le « thériaque » un antidote à base de 100 composants dont l'opium. Au moyen Age les perses et les arabes ont laissé leur empreinte dans le domaine, par exemple Rhazès (865-925) connu sous le nom de « Galien des arabes », on lui doit la séparation rationnelle des plantes entre médicaments simples et complexes, ainsi que la distillation de l'alcool. Sans oublier Avicenne (980-1037), Maimonide (1138-1204), à cette époque aussi les monastères avaient de nombreuses traditions

**Chapitre 1 : ethnobotanique & ethnopharmacologie**

---

et secrets médicaux (Morel, 2008). Depuis 1804 la phytothérapie a connu des avancées importantes arrivées jusqu'à l'isolement et l'identification des alcaloïdes ([www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/15-interet-therapeutique/](http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloïdes/15-interet-therapeutique/)).

**I- Ethnobotanique et ethnopharmacologie**

**III-1- L'ethnobotanique**

L'ethnobotanique est une partie de l'ethnobiologie (sous discipline) qui traite la relation entre l'homme et la flore. Elle fait appel à la systématique botanique et aux ethnologues pour connaître les usages traditionnels des plantes. ([www.cnrtl.fr/definition/ethnobotanique](http://www.cnrtl.fr/definition/ethnobotanique)).

**III-2-L'ethnopharmacologie**

Elle est composée de deux mots « ethnologie » signifiant connaissance des peuples et de leur culture et « pharmacologie » qui signifie connaissance des médicaments, elle consiste à recueillir les pratiques médicales traditionnelles et le savoir propre à certaines cultures à propos des plantes, mais aussi des remèdes minéraux et d'origine animale (Morel, 2008).

**III-3- Les enquêtes ethnobotaniques**

L'objectif principal des enquêtes ethnobotaniques, est de conserver le savoir en médecine traditionnelle et d'orienter les scientifiques qui travaillent dans le domaine de phytochimie et de pharmacognosie, dans le choix du substrat en leur permettant d'affiner le choix de ce dernier, par présentation et discussion des connaissances en médecine traditionnelle d'une manière scientifique, elle est de ce fait l'étape clé dans l'achèvement du travail dans ces domaines. Les enquêtes ethnobotaniques se réalisent selon la démarche suivante :

**III-3-1- Le questionnaire**

Une interview est réalisée souvent au près des herboristes ou de la population locale (surtout les vieux). Les informateurs sont interrogés verbalement, en leur demandant de citer les différentes connaissances dans le domaine (Rosenthal, 2006), incluant le nom vernaculaire de la plante, la partie utilisée, la méthode de préparation et les maladies pour laquelle elle est préconisée. On doit mettre les informateurs à l'aise et leur laisser suffisamment de temps pour qu'ils puissent donner le maximum d'informations (Akerreta *et al.*, 2007).



**III-3-2- Zone d'étude**

Pour la zone d'étude, les informations qu'elle doit comporter sont des informations qui englobent la situation géographique de la zone étudiée, la description de la flore, des données météorologiques (pluviométrie, humidité ...etc).

**III-3-3- Indices quantitatifs**

Ils sont utilisés pour analyser les données, les plus utilisés sont cités ci-dessous :

- **Informant consensus factor (ICF)**

Cet indice nous informe sur l'importance de l'homogénéité de l'information entre les informateurs. Les valeurs de l'ICF sont faibles (proche de 0) s'il n'y a pas d'échange entre les informateurs concernant l'usage des plantes et sont élevées (proche de 1) s'il y a un bon échange entre les informateurs (Trotter et Logan, 1986 ; Heinrich *et al.*, 1998).

- **Fidelity level (FL)**

Un FL élevé indique une fréquence élevée de l'usage de la plante par les informateurs dans le traitement d'une catégorie de maladie particulière dans la zone étudiée (Friedman *et al.*, 1986).

- **Frequency citation et relative frequency citation (FC et RFC)**

$RFC = FC/N$  ou N est le nombre d'informateurs total sans tenir compte des catégories utilisées (Tahira *et al.*, 2015).

- **Use value (UV)**

La valeur d'usage nous informe sur les plantes connues localement (Musa *et al.*, 2011).

- **Indice de Jaccard (IJ)**

La formule de calcul de cette indice:  $JI = C \times 100 / A + B - C$  ou A le nombre d'espèces de la zone A, B le nombre d'espèces de la zone B, et C est le nombre d'espèces dans les deux zones A et B (González-Tejero *et al.*, 2008), cette indice est utilisée dans l'analyse interculturelle entre les groupes ethniques de la zone étudiée (Guzel *et al.*, 2015).

- **Relative importance (RI)**

Il est calculé selon la formule suivante :  $RI = (PP+AC) \times 100/2$  (Bennett et Prance, 2000). Où PP représente les propriétés pharmacologiques, les informations d'usage relatives sont calculés par la division du nombre d'informations d'usage (UR use reports) attribué à une espèce donnée, par le nombre maximal d'informations d'usage attribué aux espèces les plus importantes (les espèces avec le nombre d'informations d'usage le plus élevé), et AC représente les maladies traitées, qui indique le système corporel relatif traité. AC est calculé par le nombre du système corporel traité par une espèce donnée, par le nombre maximal de catégorie de maladie traité par les espèces les plus largement utilisées.

**Chapitre II :**  
**Description botanique et généralités**  
**sur la plante *Bellevalia mauritanica***  
**Pomel**

**Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel****I- L'ordre des Asparagales**

L'Ordre de sAsparagales, ordre monophylétique avec un clade asparagoïde supérieur incluant par exemples Agavaceae, Alliaceae, Amaryllidaceae, Behniaceae, Convallariaceae, Hyacinthaceae, Laxmanniaceae (Lomandraceae) et un clade Asparagoïde inférieur incluant des petits clades différents telles que Orchidaceae et des familles reliées (Asteliaceae, Blandfordiaceae, Boryaceae, Hypoxidaceae, Lanariaceae), Iridaceae et des familles reliées (Doryanthaceae, Ixioliriaceae), Asphodelaceae et des familles en relation (Hemerocallidaceae et Xanthorrhoeaceae) et les Tecophilaeaceae (Chase *et al.* 1995 ; Rudall *et al.* 1997 ; Fay *et al.* 2000).

**II-Différentes classifications du genre *Bellevalia* Lapeyr.**

Les espèces du genre *Bellevalia* sont des plantes vivaces qui appartenait auparavant à la famille des Liliacées, regroupant les plantes bulbeuses et rhizomateuses. Selon la classification actuelle ce genre appartient à la famille des Asparagaceae, sous famille des Scilloideae au lieu de Hyacinthoideae pouvant être considérée comme une famille différente des Hyacinthaceae et à laquelle appartenait aussi le genre *Bellevalia* Lapeyr dans les années précédentes (Chase *et al.* 2009).

**II-1-La famille des Asparagaceae**

La famille des Asparagaceae renferme les 7 sous familles suivantes : Agavoideae, Aphyllanthoideae, Asparagoideae, Brodiaeoidae, Lomandroideae, Nolinoideae et Scilloideae. Les Asparagaceae ont des racèmes mais ne renfermant pas d'inflorescence, ou ne possédant pas de bractées. En ce qui concerne les Amaryllidaceae, (sous famille Amaryllidoideae) et les Asparagaceae la (sous famille Scilloideae), seulement les tribus sont énumérées (Meerow *et al.* 2000), puisque ces deux sous familles renferment plusieurs genres et la circonscription générique est en changement permanent, particulièrement concernant la dernière sous famille (Pfosser et Speta 1999 ; Manning *et al.* 2004 ; Manning *et al.* 2009). Pour les Amaryllidaceae (sous famille Allioideae), une classification en tribus existe (Fay *et al.*, 2006).

**II-2-Intérêt pharmacologique de la famille des Asparagaceae**

Selon Lin *et al.* (2014), six familles seulement renferment des homoisoflavonoïdes, une classe de flavonoïdes rarement trouvés dans la nature. La majorité de ces composés ont été

Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

identifiés à partir des Asparagaceae (Ophiopogon, Scilla, Muscari, Polygonatum, Liriope, Agave, Chlorophytum, Hyacinthus, Pseudoprospéro, Drimia, Ornithogalum, Ledebouria, Dracaena, Chionodoxa, Veltheimia, Bellevalia, Eucomis entre autres), et des Fabaceae (Hoffmannseggia, Caesalpinia, Cassia, Pterocarpus, Haematoxylum entre autres). En parallèle, peu de composés homoisoflavonoïdes ont été trouvés dans les Polygonaceae (Polygonum among others), les Portulacaceae, les Orchidaceae, et les Gentianaceae. Ces composés sont connus pour leurs multiples activités biologiques en l'occurrence : antimicrobienne, antimutagène, antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique, immunomodulatrice, anti angiogène, inhibitrice de la protéine tyrosine kinase.

## II-3-Les homoisoflavonoïdes (chromanones)

Les homoisoflavonoïdes une classe de composés naturels rares, qui sont structurellement relatives aux flavonoïdes les plus largement répandus. En comparaison avec les flavonoïdes, les homoisoflavonoïdes ont un atome de carbone en plus dans leur squelette (Figure 1), ayant probablement la chalcone comme précurseur. Plus de 240 homoisoflavonoïdes naturels ont été identifiés avec un large spectre d'activités biologiques. Les homoisoflavonoïdes peuvent être classés en 5 types (Figure 1) : type sappanine, type scillaciline, type braziline, type caesalpine, et type protosappanine (Lin *et al.*, 2014).

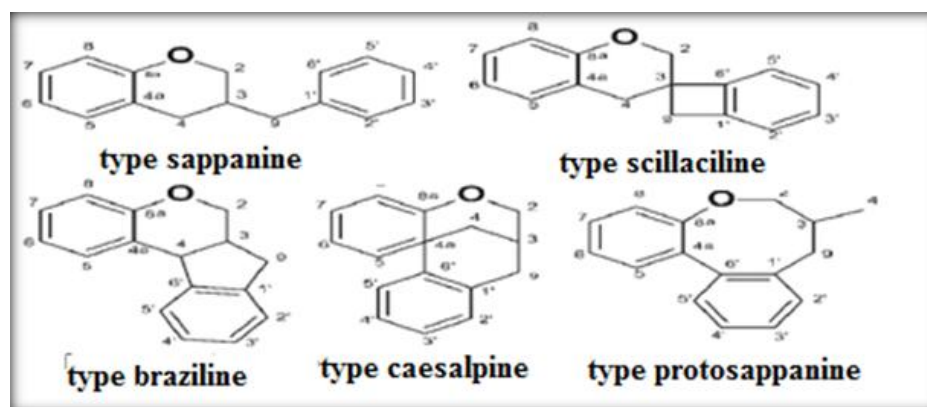


Figure 1 : Squelettes carbonés des homoisoflavonoïdes (Lin *et al.* 2014)

Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* PomelII-4-Le genre *Bellevalia* Lapeyr.

Les plantes faisant partie de ce genre sont des plantes bulbeuses.

Feuilles toutes basiliaires,  $\pm$  larges. Fleurs pédonculées, en grappes. Périclype cylindrique ou en cloche, divisé au moins dans son quart supérieur et parfois jusqu'à la moitié en 6 lobes obtus, dressés ou étalés-dressés. Six étamines inégales et insérées à la gorge du périclype ; à filets  $\pm$  dilatés à la base et subulées ; anthères violettes ou violet-rouge.

Ovaire à 3 loges, 2-6 ovulées. Capsule trigone, loculicide, à loges 1-2 spermes, graines lisses et sphériques (Quezel et Santa, 1962). Les bractées sont petites et solitaires. Quant au style, il est allongé à stigmate capité indivis. Les graines sont subglobuleuses, lisses, noires couvertes d'une pruine bleue, non arillées. Enfin, l'embryon est arqué et occupe les  $\frac{3}{4}$  de l'albumen charnu. L'espèce type du genre est *B. romana* (L.) Rchb. (connue aussi par *B. operculata* Lapeyr.) (Maire, 1958).

II-4-1-Distribution géographique du genre *Bellevalia* Lapeyr.

Les espèces du genre *Bellevalia* sont distribuées entre trois différentes régions phytogéographiques (Figure 2) : Méditerranéenne, Saharo-Sindienne et Irano-Touranienne. Cette dernière représente la région phytogéographique la plus importante avec une grande distribution des espèces. L'Iran et la Turquie sont réputés comme étant des zones où des nouvelles espèces peuvent être retrouvées (Feinburn-Dothan, 1940). Le genre est représenté par 4 sections renfermant 45 espèces. Cependant, d'autres auteurs reconnaissent 6 sections dans le genre (Feinbrun-Dothan, 1940; Persson et Wendelbo, 1979; Wendelbo, 1980) et renfermant environ 70 espèces (Gurdal *et al.*, 2014; Karabacak *et al.*, 2014, 2015).



Figure 2. Carte géographique montrant la distribution native du genre *Bellevalia* Lapeyr. à travers le monde e-monocot.org

#### II-4-2-Genres voisins

*Bellevalia* Lapeyr. diffère de *Muscari* par son périanthe non urcéolé à divisions distinctes au moins jusqu'au  $\frac{1}{4}$  supérieur ; par ses étamines à filets dilatés à la base ; par ses graines sphériques et lisses (Battandier et Trabut, 1895). Une grande ressemblance est aussi notée avec les espèces *Hyacinthella* Schur et *Hyacinthus* L., qui sont souvent confondues. Cependant, il existe un trait de distinction morphologique : il s'agit de la forme des filets qui sont liés au tube du périanthe dont les parties libres sont plus ou moins triangulaires dilatées à la base (Persson et Windelbo, 1979).

#### III- L'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel

Les fleurs de l'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel (Figures 3, 4 et 5) est caractérisée par un ovaire bleu avec des lignes blanchâtres, un style bleu à la base et blanc au sommet, des filets contigus à la base, plus grands que les anthères. Les feuilles de la plante sont largement linéaires, atteignant 3 cm de large. Les pédoncules sont généralement violets. Le périanthe est violet sur sa face extérieure, brun-violet sur le tube ; blanc rayé de vert sur le dos des divisions et blanc lavé de violet sur la face intérieure. Les anthères sont d'une couleur violette (Quezel et Santa, 1962).

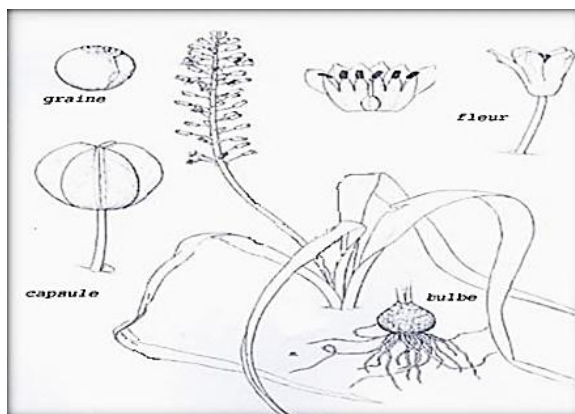


Figure 3. Schéma représentant l'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel (Benbelkacem, 2010)



Figure 4. *Bellevalia mauritanica* Pomel (Maire, 1958)

Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* PomelFigure 5. Photographie *in situ* de l'espèce *Bellevalia mauritanica* PomelTableau 1. Différents caractères distinguant l'espèce *B. mauritanica* Pomel (Brullo *et al.*, 2009)

Caractère	<i>B. pelagica</i>	<i>B. dolichophylla</i>	<i>B. galitensis</i>	<i>B. romana</i>	<i>B. mauritanica</i>
Forme du bulbe	Hémisphérique	Ovoïde	Subsphérique ou ovoïde	Ovoïde	Subsphérique ou ovoïde
Taille du bulbe (cm)	2.5–3 × 3–3.5	3 × 2.5	3–3.4 × 3.8–4	2.5–3 × 3–3.5	3–4 × 3.5–4
Nombre de feuilles	6–8	4–5	6–8	3–6	3–4
longueur de la feuille (cm)	50–70	80–100	25–30	15–30	30–40
Largeur de la feuille (mm)	15–25	25–35	25–30	5–15	20–30
Forme des feuilles	Dentée	Lisse		Lisse	Ciliée
Nombre de tige	3	1	1(2)	1–2	1
Longueur de tige (cm)	28–35	30–40	20–35	20–25	30–40
Nombre de fleurs par inflorescence	52–60	24–30	15–25	20–35	30–40
Longueur de la bractée (mm)	2–6	1–3	2–5	–	2–2.5



Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* PomelTableau 1. Différents caractères distinguant l'espèce *B. mauritanica* Pomel (Brullo *et al.*, 2009) (suite)

Caractère	<i>B. pelagica</i>	<i>B. dolichophylla</i>	<i>B. galitensis</i>	<i>B. romana</i>	<i>B. mauritanica</i>
Longueur du pédicelle (mm)	6–11	8–11	8–10	10–15	8–12
Pédicelle / périanthe	Plus court	Plus court ou presque égal	Presque égal ou plus long	Presque égal ou plus long	Plus court ou presque égal
Longueur de l'ovaire (mm)	12–15	11–12	10–12	8–10	9–12
Longueur des filets des étamines (mm)	6–7	5.5–6	5–6	6–6.5	4.5–6
Longueur des anthères (mm)	4.5–5.5	3–3.6	4–4.5	3–3.5	–
Forme de la capsule	Cunéiforme	Cunéiforme	Cunéiforme	Cunéiforme	Cunéiforme
Taille de la capsule (mm)	13–15 × 13–15	13–15 × 12–15	8–10 × 10–12	10–13 × 7–9	10–12 × 10–12
Nombre chromosomique (2n)	16	16	16	8	16

III-1-Habitat et distribution géographique de *Bellevalia mauritanica* Pomel

*Bellevalia mauritanica* Pomel est endémique de l'Afrique Du Nord et s'étend de la Lybie jusqu'au Maroc en passant par la Libye et la Tunisie (Astuti *et al.*, 2017). Elle est rencontrée dans les champs, les pâturages et les marais. Cette espèce est assez commune dans le Tell Algéro-constantinois (Figure 6). La variété **mauritanieu** M. et W. est endémique au Nord de l'Afrique, son nom vernaculaire est « *Zeit el ouhouch* » (= *B. Battandieri* Fareyn.) (Quezel et Santa, 1962).

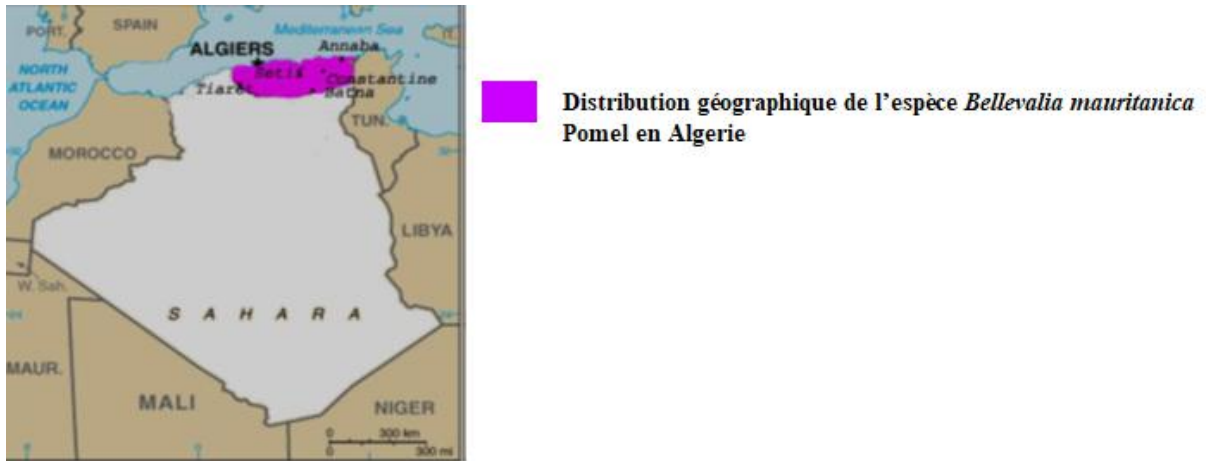


Figure 6. Distribution géographique de l'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel (Quezel et Santa, 1962).

### III-2-Position systématique de l'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Viridae plantae Cavaleer

**Division :** Tracheophyta

**Sous division :** Spermatophytina

**Infra division :** Angiospermae

**Classe :** Liliopsida (monocotylédone)

**Sous classe :** Liliidae

**Ordre :** Asparagales

**Famille :** Asparagaceae

**Sous famille :** Scilloideae

**Genre :** *Bellevalia*

**Espèce :** *Bellevalia mauritanica* Pomel

### IV-Phytochimie et activités biologiques des espèces du genre *Bellevalia* Lapeyr.

Les plantes du genre *Bellevalia* Lapeyr. restent très peu investiguées sur le plan phytochimique, hormis quelques-unes ciblant principalement les homoisoflavonoïdes isolés à partir de *Bellevalia romana*, *Bellevalia egii* et *Bellevalia flexuosa* (Adinolfi *et al.*, 1989 ; Alali *et al.*, 2015 ; El-Elimat *et al.*, 2018) (Tableau 2), en effet les composés: 5,7-dihydroxy-3-(3'-hydroxy-4'-methoxybenzyl)-4-chromanone, 7,4'-di-O-methyl-3'-hydroxy-3,9-dihdropunctatin, 3-benzylidene-4-chromanone, 7-O-methyl-3'-hydroxypunctatin, 7-O-methyl-8-demethoxy-3'-hydroxy-3,9-dihdropunctatin, et 7-O-methyl-3'-hydroxypunctatin ont montré une grande efficacité contre quelques lignées cellulaires (Alali *et al.*, 2015 ; El-Elimat *et al.*, 2018), en outre le 5,7-dihydroxy-3-(3'-hydroxy-4'-methoxybenzyl)-4-chromanone et le punctatin ont montré une activité importante contre la bactérie

Chapitre 2 : Généralités et description botanique de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

*Mycobacterium smegmatis* (El-Elimat *et al.*, 2018), en plus d'une étude des activités biologiques des extraits de la plante *Bellevalia gracilis* (Çiçikoglu Yildirim *et al.*, 2013).

**Tableau 2.** Les produits isolés des espèces du genre *Bellevalia* Lapeyr.

N	Nom	Formule	Référence
1	Bellevalioside A	C <sub>62</sub> H <sub>98</sub> O <sub>31</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
2	Bellevalioside B	C <sub>57</sub> H <sub>90</sub> O <sub>27</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
3	Bellevalioside C	C <sub>61</sub> H <sub>96</sub> O <sub>31</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
4	Bellevalioside D	C <sub>62</sub> H <sub>100</sub> O <sub>31</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
5	Muscaroside B	C <sub>62</sub> H <sub>98</sub> O <sub>31</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
6	Muscaroside H	C <sub>57</sub> H <sub>90</sub> O <sub>27</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1990
7	3-benzyl-3-hydroxychroman-4-one	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015 ; El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
8	3-benzylidene-4-chromanone-	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	Adinolfi <i>et al.</i> , 1989 ; Alali <i>et al.</i> , 2015
9	5-hydroxy-7,8-dimethoxychroman-4-one.	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
10	methylthioacrylate bellegimycin	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> S	Alali <i>et al.</i> , 2015
11	7-O-Methyl-3,9-dihydropunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
12	8-O-Demethyl-7-O-methyl-3,9-dihydropunctatin	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
13	7,4'-Di-O-Methyl-3'-hydroxy-3,9-dihydropunctatin	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> O <sub>7</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
14	7-O-Methyl-3'-hydroxypunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>7</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
15	7-O-Methyl-8-demethoxy-3-hydroxy-3,9-dihydropunctatin	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> O <sub>6</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015 ; El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
16	Bellegimycin	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> S	Alali <i>et al.</i> , 2015
17	7-O-Methyl-3'-hydroxy-3,9-dihydropunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
18	6-Hydroxy-7-O-methyl-3,9-dihydropunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015 ; El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
19	3',4',5,7-Tetrahydroxyhomoisoflavanone	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
20	7-O-Methylpunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>6</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015 ; El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
21	5-Hydroxy-7,8-dimethoxychroman-4-one	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> O <sub>5</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
22	N-trans-feruloyltyramine	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	Alali <i>et al.</i> , 2015
23	6-Hydroxy-8-demethoxy-4'-O-methyl-3,9-dihydropunctatin	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> O <sub>6</sub>	El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
24	7,4'-O-dimethyl-8-demethoxy-3,3'-dihydroxy-3,9-dihydropunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub>	El-Elimat <i>et al.</i> , 2018
25	7-O-methyl-3-hydroxy-3,9-dihydropunctatin	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> O <sub>7</sub>	El-Elimat <i>et al.</i> , 2018

**Chapitre III:**  
**Activités biologiques et méthodes**  
**hybrides chromatographiques**

## **I- Activité anti-oxydante**

### **I-1- Le stress oxydant**

Le basculement de la balance entre oxydants/antioxydants à la faveur des oxydants est appelé «stress oxydant». Le stress oxydant contribue à plusieurs pathologies, comprenant le cancer, les maladies neurologiques (jenner, 2003 ; Toshniwal et Zarling, 1992), athérosclérose, hypertension, ischémie/perfusion, (Kukreja *et al.*, 1992 ; Dhalla *et al.*, 2000) diabète, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, fibrose pulmonaire idiopatique, la maladie d'obstruction pulmonaire chronique (Asami *et al.*, 1997) et l'asthme (Andreadis *et al.*, 2003 ; Fitzpatrick *et al.*, 2009). Les organismes aérobies ont intégré les systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques qui sont souvent efficaces dans le blocage des effets nocifs des espèces réactives d'oxygène (Birben *et al.*, 2012).

### **I-2- Les espèces réactives d'oxygènes (ROS)**

Les ROS sont produites par l'organisme comme un résultat normal du métabolisme cellulaire. À de faibles concentrations jusqu'à des concentrations modérées, elles ont un rôle dans le processus physiologique cellulaire. Tandis qu'à des concentrations élevées, elles induisent des modifications des composants cellulaire comme : les lipides, les protéines et l'ADN (Wang *et al.*, 1996 ; Valko *et al.*, 2006).

#### **I-2-1- Les sources endogènes de ROS**

Les ROS peuvent être divisées en 2 groupes : les radicaux libres et les espèces non radicalaires.

- **Les radicaux libres**

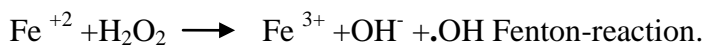
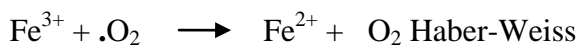
Les radicaux libres, molécules contenant un électron célibataire (un ou nombre impair) et pouvant ainsi donner une réactivité aux molécules (Birben *et al.*, 2012).

- **Les espèces non radicalaires**

Quand 2 radicaux libres partagent leurs électrons impairs, les formes non radicalaires sont formées (Birben *et al.*, 2012).

Les 3 majeurs ROS sont : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Birben *et al.*, 2012).

L'anion superoxyde est produit dans la mitochondrie par la NADPH oxydase ou la xanthine oxydase, ou par les électrons mitochondriaux du système de transport, quant au superoxyde d'hydrogène sa production se fait par la superoxyde dismutase, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, l'acide aminé oxydase à partir de l'anion superoxyde (Granger, 1988 ; Dupuy *et al.* 1991). Le  $\cdot OH$  est produit par une série de réactions appelée Haber-Weiss et Fenton par cassure du  $H_2O_2$ , en présence de métaux de transition : le  $Fe^{2+}$  ou le  $Cu^{2+}$  (Fenton, 1984).



### I-2-2- Les sources exogènes des ROS

Les principales sources exogènes des ROS sont : le tabagisme, l'exposition à l'Ozone, l'hyperoxie, les radiations ionisantes, les ions de métaux lourds (Birben *et al.*, 2012).

### I-3- Les antioxydants

Le corps humain est doté d'une variété d'antioxydants, qui sont divisés en 2 catégories : antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

#### I-3-1- Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques du poumon sont principalement les : SODs (EC 1.15.1.11), catalase (EC 1.11.1.6), et GSH-Px (EC 1.11.1.9). en plus de ces enzymes, d'autres antioxydant incluant l'hème oxygénase-1 (EC 1.14.99.3), et les protéines redox, comme les thioredoxines (TRXs, EC 1.8.4.10), peroxyredoxines (PRXs, EC 1.11.1.15), et les glutaredoxines, sont connues aussi pour leur rôle crucial dans la défense anti-oxydante pulmonaire (Birben *et al.*, 2012).

- **Les superoxydesdismutases (SODs, EC 1.15.1.11)**

Comme le radical superoxyde est la ROS primaire produite par une variété de source, sa dismutation par la SOD est d'une importance primaire pour chaque cellule, les SODs sont

largement exprimées dans les tissus pulmonaires humains. Il existe 3 formes de SODs à savoir : CuZn-SOD, Mn-SOD (localisée dans la matrice mitochondriale), et EC-SOD (localisée dans la matrice extracellulaire, surtout dans les zones contenant des grandes quantités de fibres de collagène type I et autour des vaisseaux pulmonaires et systémiques (Birben *et al.*, 2012)). Elle a été trouvée aussi dans l'épithélium bronchique, l'épithélium alvéolaire, et les macrophages alvéolaires (Kinnula et Crapo, 2003 ; Kinnula, 2005). L'ensemble des CuZn-SOD, Mn-SOD sont généralement considérés comme piègeurs des radicaux superoxydes. Le taux relativement élevé de EC-SOD dans les poumons en plus de sa liaison spécifique avec la matrice extracellulaire, la rend un élément protecteur des poumons (Zelko & Mariani, 2002).

- **La catalase (EC 1.11.1.6)**

La catalase existe sous forme de tétramère composé de 4 monomères identiques, dont chacun contient un groupement «hème» au niveau du site actif. La dégradation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est accomplie via la conversion entre 2 conformations de catalase-ferricatalase (ferlié à l'eau) et le composé I (fer complexé avec un atome d'oxygène). La catalase aussi engage le NADPH comme un réducteur équivalent pour prévenir l'inactivation oxydative de l'enzyme (formation du composé II), par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme il est réduit en eau (Kirkman *et al.*, 1999).

- **la glutathion peroxydase (GSH-Pxs)**

Parmi les enzymes du cycle redox, qui réduit le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'hydro peroxyde lipidiques, on peut citer les GSH-Pxs (Flohé, 1988). Quatre GSH-Px ont été décrites, codées par différents gènes : GSH-Px-1 (GSH-Px cellulaire), elle est ubiquitaire et réduit le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les peroxydes d'acides gras, mais pas les peroxydes lipidiques estérifiés (Arthur, 2000).

- **Les enzymes contenant le thiol**

Les enzymes contenant le thiol dans leurs structures à savoir, les TRXs (TRX1 et TRX2) et les TRRs ont été caractérisées dans le cytosol et la mitochondrie des cellules humaines. Dans le poumon, les TRX et les TRR (EC 1.8.1.9) sont exprimées dans l'épithélium bronchial et alvéolaire et dans les macrophages, les PRXs (qui sont des thioredoxines peroxydases), et des glutaredoxines (Gromer *et al.*, 2004). Six différents PRX ont été trouvées dans les cellules humaines, qui sont différents dans leur compartimentation ultra structurelle. Les GSTs (EC 2.5.1.18), une autre famille d'enzymes anti-oxydante, inactivant les métabolites secondaires-

comme les aldéhydes insaturés, les époxydes, et les hydroperoxydes. 3 familles majeures de GST ont été décrites : la GST cytosolique, la GST mitochondriale (Ladner *et al.*, 2004 ; Robinson *et al.*, 2004) et la GST associée à la membrane microsomale qui a un rôle dans le métabolisme des eicosanoïdes et du GSH (Jakobsson *et al.*, 1999) Sept classes de GST cytosolique sont identifiées chez les mammifères, en l'occurrence : Alpha, Mu, Pi, Sigma, Thêta, Omega, et Zeta (Hayes et Pulford, 1995 ; Sheehan *et al.*, 2001).

### I-3-2- Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques comprennent les molécules de faible poids moléculaire, comme les vitamines (vitamines C et E), le  $\beta$ -carotène, et le glutathion GSH : un tripeptide (L-g-glutamyl-L-cysteinyl-L-glycine) qui comprend un groupement thiol (sulfhydryl).

- **La vitamine C (Acide ascorbique)**

Une vitamine hydrosoluble (Figure 7), qui confère à la phase aqueuse intra et extracellulaire, un pouvoir antioxydant par piégeage des radicaux libres d'oxygène. Elle convertit les radicaux libres d'oxygène de la vitamine E en son état initial. Son taux sanguin diminue avec l'âge (Bunker, 1992 ; Mezzetti *et al.*, 1996).

- **La vitamine E ( $\alpha$ -Tocophérol)**

Une vitamine liposoluble (Figure 8), qui se concentre au niveau des sites hydrophobes des membranes cellulaires et constitue la principale défense contre les oxydants induisant des lésions membranaires. La vitamine E donne un électron au radical peroxyolé produit lors de la peroxydation lipidique, l' $\alpha$ -tocophérol est sa forme la plus active et constitue le majoritaire antioxydant lié à la membrane cellulaire. La vitamine E déclenche l'apoptose des cellules cancéreuses et inhibe la formation des radicaux libres (White *et al.*, 1997).



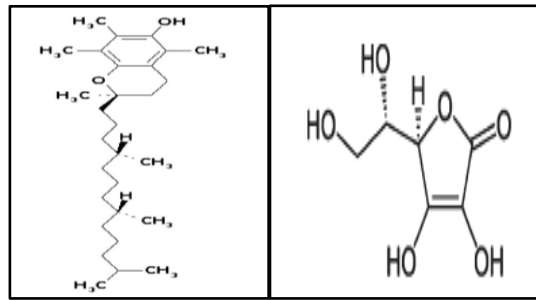


Figure7. structure chimique de la Vitamine C (Birbenet *et al.*, 2012)

Figure8. Structure chimique de la Vitamine E (Birbenet *et al.*, 2012)

- **Le glutathion**

Il est très abondant dans tous les compartiments cellulaires, et représente l'antioxydant soluble majoritaire. Le rapport GSH/GSSG est le déterminant majeur du stress oxydant. Le GSH (Figure 9) détoxifie le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques via l'action de la GSH-Px. Le GSH donne son électron au  $H_2O_2$  pour former  $H_2O$  et  $O_2$ . Le GSSG est réduit en GSH par la GSH réductase, qui utilise le NADPH comme donneur d'électron. Le glutathion réduit donne son proton à la membrane pour la protéger des attaques oxydantes. Le GSH est un cofacteur de plusieurs enzymes détoxifiantes comme la GSH-Px et la transférase, il convertit la vitamine C et E à leur forme active, il empêche l'apoptose cellulaire et il régularise et active plusieurs facteurs de transcription (Masella *et al.*, 2005).

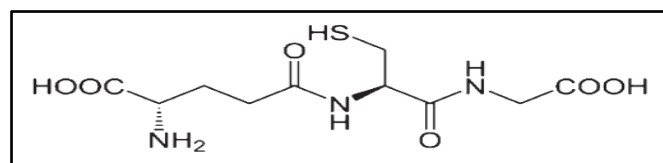


Figure9. Structure chimique du glutathion (Birben *et al.*, 2012)

- **Les caroténoïdes ( $\beta$ -Carotène)**

Ce sont des pigments de plantes (Figure 10). Principalement, le  $\beta$ -carotène réagit avec le peroxyde ( $ROO\cdot$ ), l'hydroxyle ( $\cdot OH$ ), et le superoxyde ( $O_2\cdot^-$ ) (El-Agamey *et al.*, 2004). Les caroténoïdes montrent leurs effets antioxydants à faible pression partielle d'oxygène, mais peuvent avoir des effets pro-oxydants à des concentrations élevées de ce dernier (Rice-Evans *et al.*, 1997). Les caroténoïdes et les acides rétinoïques (RAs) sont capables de réguler les facteurs

de transcription (Niles, 2004). Le  $\beta$ -Carotène inhibe l'oxydant en induisant l'activation du NF-kB et de l'interleukine IL-6 et la production du TNF- $\alpha$ . Les caroténoïdes affectent l'apoptose cellulaire. Les effets antiprolifératifs des Ras sont principalement médiatisés par les récepteurs d'acide rétinoïque et varient parmi les types cellulaires. Dans les cellules du carcinome mammaire, le récepteur d'acide rétinoïque a été montré de pouvoir déclencher l'inhibition de la croissance, par induction de l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose, ou les deux (Donato et Noy, 2005 ; Niizuma *et al.*, 2006)

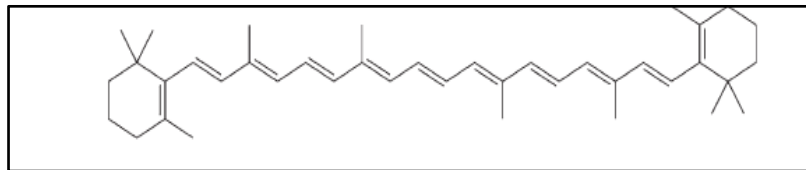


Figure 10. Structure chimique du  $\beta$ -carotène (Birben *et al.*, 2012)

#### I-4- Les cibles biologiques des ROS

Les ROS peuvent :

- Induire des modifications de l'ADN par dégradation des bases, des liaisons osidiques, des mutations, délétions ou translocations et des cross-linking avec des protéines. Ces modifications sont en rapport avec la carcinogénèse, le vieillissement, et les maladies neuro-dégénératives, cardiovasculaires, et auto-immunes. Le tabagisme, les métaux redox et les métaux non redox comme le fer, le cadmium, le chrome et l'arsenic sont impliqués dans la carcinogénèse et le vieillissement par formation de radicaux libres ou formation de liaisons avec les groupements thiols.
- Induire la peroxydation lipidique par perturbation de l'arrangement de la bicouche phospholipidique, conduisant ainsi à l'inactivation des récepteurs et des enzymes en plus de l'augmentation de la perméabilité tissulaire (Girotti, 1985), les produits de la peroxydation lipidiques sont capable d'inactiver certaines protéines cellulaires par formation d'un cross-linkage des protéines (Siu et Draper, 1982 ; Hagihara *et al.*, 1984), exemple le 4-Hydroxy-2-nonenal cause la déplétion du GSH intracellulaire et induit la production de peroxyde (Keller *et al.* 1997 ; Uchida *et al.*, 1999), active le récepteur du facteur de croissance épidermique (Suc *et al.*, 1998)et induit la production de fibronectine (Tsukagoshi *et al.*, 2002).
- Induire la fragmentation de la chaîne peptidique, altérations des charges électriques des protéines, cross-linking des protéines et oxydation des acides aminés spécifiques (cystéine et mé-

thionine) (Kelly et Mudway, 2003) entraînant ainsi leur exposition à la protéolyse par des protéases spécifiques (Dean *et al.*, 1985) ou des changements conformationnels (Dean *et al.*, 1985 ; Davies, 1987 ; Lyras *et al.*, 1997) aussi les enzymes contenant des métaux dans leurs sites actifs ou proches de ces derniers, sont plus sensibles à l'oxydation catalysée par un métal, ce qui engendre leur inhibition.

-induire l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la transduction du signal (Poli *et al.*, 2004 ; Valko *et al.*, 2006), la perturbation du rapport GSH/GSSG entraîne l'activation des facteurs de transcription qui en sont sensibles, tels que le NF- $\kappa$ B, AP-1, le facteur nucléaire des cellules T activées et le facteur 1 inductible, l'hypoxie qui sont impliqués dans la réponse inflammatoire (Birben *et al.*, 2012).

### I-5- Les méthodes d'évaluation de l'activité anti-radicalaire

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour déterminer l'activité anti-oxydante d'aliments, d'extraits ou de composés purs (Figure 11). Ces tests peuvent se diviser en deux catégories : les tests mesurant le transfert d'électrons ou d'hydrogène vers un radical coloré stable facile à détecter (DPPH, TEAC) et d'autres qui font intervenir une compétition (ORAC, décoloration de  $\beta$ -carotène et de crocine), entre l'antioxydant et une cible à protéger (pigments, lipides) (Bensouici, 2015). D'après une étude récente (Alam *et al.*, 2013), 19 méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer *in vitro* le pouvoir antioxydant d'un échantillon et la méthode du DPPH scavenging, représente le test le plus souvent adopté (Figure 20).

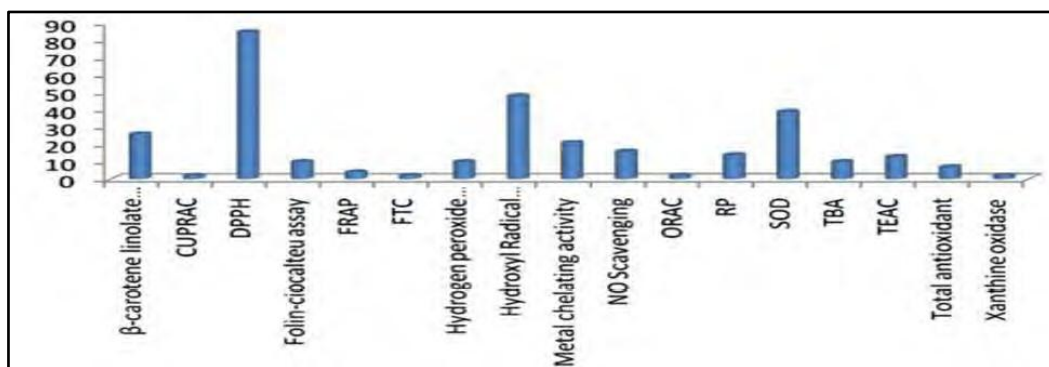


Figure 11. La fréquence d'utilisation des méthodes anti-oxydantes *In vitro* (Bensouici, 2015)

## II- Activité antimicrobienne

On pourrait reconnaître différents niveaux de diversité moléculaires des métabolites secondaires des plantes. Le cadre de l'atome de carbone, caractéristiques d'une sous classe donnée de produits naturels doit être le premier niveau. Du point de vue biosynthèse, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois groupes majeurs : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les phénylpropanoïdes et composés phénoliques alliés (Croteau *et al.*, 1997).

### II-1- Le mécanisme d'action antimicrobien des métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires des plantes peuvent affecter les cellules microbiennes selon différentes voies, comme le schématise la (Figure 12). Ceux-ci incluent l'altération de la fonction de la membrane et de la structure (incluant le système d'efflux), l'altération de la synthèse et de la fonction des DNA/RNA, interférence avec le métabolisme intermédiaire, induction de la coagulation des constituants cytoplasmiques et interruption de la communication des cellules (quorum sensing, QS) (Zhang *et al.*, 2008 ; Garvey *et al.*, 2010). Cette action antimicrobienne souvent inclus la séquence d'évènements suivante : l'interaction des métabolites secondaires des plantes avec la membrane, diffusion à travers la membrane cellulaire (i.e. pénétration à l'intérieur de la cellule) et leur interaction avec les constituants/processus intracellulaires (Sikkema *et al.*, 1995).

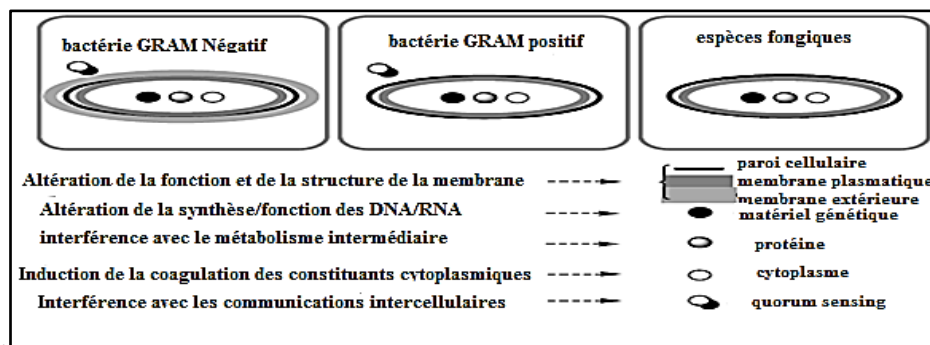


Figure12. Les cibles possibles des métabolites secondaires des plantes (Radulovic *et al.*, 2013)

### II-2- Les produits naturels antimicrobiens

Selon Saleem *et al.*, 2010 différentes classes de produits naturels possèdent un potentiel antimicrobien considérable en l'occurrence les alcaloïdes, les acétylènes, les coumarines, les fla-

onoïdes et les isoflavonoïdes, les iridoïdes, les lignanes, les macrolides, les phénols (autre que les flavonoïdes et les lignanes), les polypeptides, les quinones, les saponines stéroïdiques, les terpenoïdes, les xanthones, les composés micellaires.

### II-3- Les antibiotiques

En 1941, Waksman, découvreur de la streptomycine, a proposé le mot antibiotique pour désigner toute substance produite par un micro-organisme capable d'inhiber la croissance d'autres micro-organismes et même de les détruire (Courvalin *et al.*, 2001). Les antibiotiques ont des cibles bactériennes différentes, ce qui détermine leur mode d'action (Tableau 3).

Tableau 3. Les principaux antibiotiques et leur cible d'action (Carip *et al.*, 2008)

<i>Antibiotiques à activité principalement bactéricide</i>		<i>Antibiotiques à activité principalement bactériostatique</i>	
Classe	Cible bactérienne d'action	Classe	Cible bactérienne d'action
<b>1. Bétalactamines</b>	Paroi	<b>1. Phénicols</b>	ribosomes
Ex : pénicillines	péptidoglycane	ex : chloramphénicol	
céphalosporines	ribosomes	thiophénicol	
<b>2. Aminosides</b>		<b>2. Cyclines</b>	ribosomes
Ex : streptomycine	Membrane cytoplasmique	ex: tétracyclines, doxycyclines	
gentamicine		<b>3. macrolides et apparentés</b>	
<b>3. Polymixines</b>	ARN polymérase	ex:erythromycine	synthèse des acides nucléiques
Ex:colimycine		pristinamycine	
<b>4. Rifamycines</b>	ADN gyrase	<b>4. Sulfamides et apparentés</b>	acides nucléiques
ex : rifampicine		ex:cortimoxazole	
		<b>5. Nitroimidazolés</b>	
		ex : métronidazole	

### II-4-La résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques deviennent de moins en moins efficaces contre les bactéries, en raison de l'adaptation de ces dernières à ces antibiotiques, on distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise.

#### **II-4-1- La résistance bactérienne naturelle**

Si les antibiotiques, substances naturelles synthétisées par la plus part des microorganismes, ne peuvent pas être actives sur tous les microorganismes, cela s'appelle : la résistance bactérienne naturelle vis-à-vis de ces substances. Ce mécanisme existe chez toutes les souches de la même espèce (Courvalin *et al.*, 2001). Ceci apparait, si la cible de l'antibiotique n'existe pas chez le microorganisme sur lequel ils vont agir, ou si la nature de la paroi empêche la substance de la traverser (Normak et Normak, 2002).

#### **II-4-2- La résistance bactérienne acquise**

C'est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce donnée, et qui sont censées être sensible à cet antibiotique, ceci est expliqué par l'acquisition d'un facteur génétique, qui diminue la sensibilité à la molécule d'antibiotique. Elle peut se faire soit par mutation chromosomique, soit par acquisition des gènes transférés d'un autre microorganisme.

#### **II-5- Méthodes d'évaluation de l'activité anti microbienne**

Parmi les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne, on peut citer : la méthode de dilution en milieu liquide, la méthode de dilution en milieu gélosé, la méthode E-test, l'effet bactéricide, la détermination de la CMI (Bensouici, 2015).

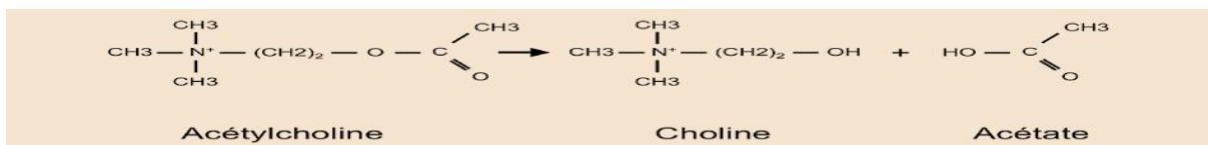
### **III- Activité anti-cholinestérase**

La cause la plus fréquente de démence sénile est probablement de nos jours, la maladie d'Alzheimer (MA). C'est une maladie chronique qui s'installe progressivement entraînant, au fur et à mesure, une perte des fonctions cognitives (la mémoire, le jugement, l'orientation, la compréhension, la capacité d'apprendre et le langage) (Colletier, 2006).

Chez les individus atteints de MA, une perte progressive du réseau de neurones cholinergiques (par conséquent, une forte diminution du taux d'acétylcholine dans le cerveau) est observée (Davies *et al.*, 1976 ; Whitehouse *et al.*, 1982).

### III-1- L'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) (EC 3.1.1.7) est une protéine exprimée dans les systèmes nerveux et sanguins des eucaryotes supérieurs. L'AChE hydrolyse à ces divers loci le neurotransmetteur ACh (Schéma 1), terminant ainsi la transmission de l'influx nerveux et préservant de ce fait, l'excitabilité de ces synapses. De sa vitesse d'hydrolyse dépendra donc la rapidité de transmission des influx nerveux.



**Schéma 1** : Réaction d'hydrolyse de l'ACh catalysée par l'AChE.

L'AChE est en effet impliquée dans divers problèmes majeurs de santé publique (maladie d'Alzheimer, myasthénie, intoxication aux insecticides, aux gaz neurotoxiques, au venin de serpents Mamba ou au curare) (Rosenberry, 1975).

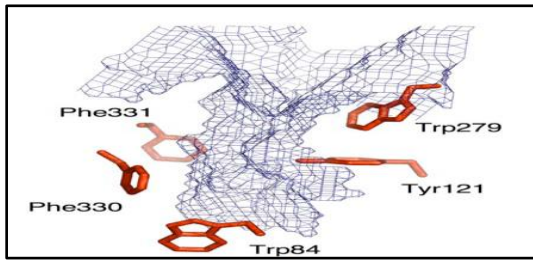
#### III-1-1- Fonction cholinergique

Les molécules d'ACh qui participent à la transmission d'un influx nerveux donné doivent être dégradées très rapidement, en quelques millisecondes, afin de restaurer l'excitabilité neuronale et ainsi permettre la transmission de l'influx nerveux suivant. Cette fonction fondamentale est assurée par l'AChE qui est parmi les enzymes les plus rapides de la nature. Son turn-over ( $k_{cat}$ ) est en moyenne, de 10.000 molécules de substrat hydrolysées par seconde (entre 1000 et 20000  $s^{-1}$ , selon l'espèce considérée), et son efficacité catalytique ( $k_{cat}/K_m$ ) d'environ  $1.5 \times 10^8 M^{-1} \cdot s^{-1}$  : la diffusion de substrats et de produits, vers et à partir du site actif, constitue pratiquement l'étape limitante de la réaction d'hydrolyse (Rosenberry, 1975 ; Quinn, 1987).

#### III-1-2- Structure tridimensionnelle

La première structure tridimensionnelle de l'AChE mise en évidence, était celle de l'AChE du poisson torpille *Torpedo californica* (TcAChE) (Figure 13) (Sussman *et al.*, 1991).

La structure publiée en 1991, était celle du dimère entier d'AChE. Chaque monomère est constitué de 11 feuillets  $\beta$  et de 15 hélices  $\alpha$ , ainsi que d'une courte portion de feuillet  $\beta$ , à l'extrémité N-terminale, qui n'est engagée dans aucune interaction avec le reste de la structure.



**Figure 13.**(Colletier, 2006): Structure tridimensionnelle de la Tc AChE montrant la sérine catalytique (Ser200), le principal contributeur à la stabilisation de l'ACh dans le site actif (Trp84), et les deux principaux constituants du site périphérique (Trp279, Tyr70) (PDB id. : 1EA5).



**Figure 14.**(Colletier, 2006): La gorge menant au site actif de la Tc AChE. Les principaux constituants du site actif (Trp84) et du site périphérique (Trp279) sont montrés, ainsi que les trois résidus responsables du rétrécissement à mi-hauteur de la gorge (Tyr121, Phe330 & Phe331). La grille représente l'accessibilité du solvant (rayon de 1.4 Å pour la sonde, i.e. la taille d'une molécule d'eau) le long de la gorge.

### III-1-3- Les inhibiteurs de l'acétylcholine estérase

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase peuvent être classés en inhibiteurs réversibles et irréversibles, l'inhibition irréversible provoque la mort de l'individu (Tableau 4).

**Tableau 4.** Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Colletier, 2006)

Inhibiteurs naturels	Origine	Inhibiteurs synthétiques	Nature
<b>Fasciculine</b>	peptide trouvé dans le venin des serpents (mambas)	Chlorpyrifos	OP
<b>d-tubocurarine</b>		Dichlorvos	OP
<b>Galanthamine</b>	Végétale	Malathion	OP
<b>Gallamine</b>	Végétale	VX	OP
<b>(-)-huperzine A</b>	Végétale	Tabun	OP
/	/	Soman	OP
/	/	Sarin	OP
/	/	Ropoxur	CBM

### III-2- La butyrylcholinestérase

La butyrylcholinestérase (EC 3.1.1.8), enzyme présente dans le plasma de l'être humain et du cheval, elle présente une cinétique qui ne peut pas être décrite par l'équation de Michaelis-Menten. Ce qui pourrait être expliqué par le fait que l'enzyme prend plusieurs formes, et cela par la forme polymère de l'enzyme interagissant avec les sites catalytiques, ou par une enzyme qui est activée par ses substrats mais dans laquelle les sous unités interagissantes ne sont pas impliquées (Eriksson et Augustinsson, 1979).



### III-2-1-Le rôle de la butyrylcholinestérase

La butyrylcholinestérase (BChE) humaine a suscité de l'intérêt en raison de sa capacité à hydrolyser les esters toxiques tel que la cocaïne ou piège les pesticides organophosphorés et des agents neurotoxiques (Nicolet *et al.*, 2003).

L'AChE et la BChE paraissent impliquées dans des rôles qui sont indépendants de leurs activités catalytiques comme la différenciation cellulaires et le développement, le rôle physiologique de la BChE reste encore obscure (Chatonnet et Lockridge, 1989 ; Mack et Robitzki, 2000), bien qu'elle soit capable d'hydrolyser l'ACh et d'autres acylcholines. Comme la BChE est relativement abondante dans le plasma (3 mg/l), et peut dégrader un nombre important d'esters, elle joue des rôles pharmacologiques et toxicologiques cruciaux (Lockridge et Masson, 2000). La BChE est une enzyme détoxifiante, servant comme un piègeant prophylactique contre les organophosphates neurotoxiques, comme le gaz neurotoxique de soman (Raveh *et al.*, 1993 ; Allon *et al.*, 1998).

### III-2-2- Structure tridimensionnelle de la butyrylcholinestérase

Plusieurs structures cristallines de la BChE ont démontré que le site actif est situé à un emplacement au fond d'une gorge profonde et étroite (Figure 15). La structure de la BChE est similaire à celle du modèle théorique déjà publié, ainsi qu'à celle de l'acétylcholinestérase *Torpedo*. La principale différence entre les valeurs expérimentales déterminées par la BChE et son modèle, se trouve au niveau d'une pochette acyle de liaison, elle est beaucoup plus grande que prévue. Un pic de densité d'électrons proche du pic catalytique Ser198, a été modélisé comme butyrate lié.

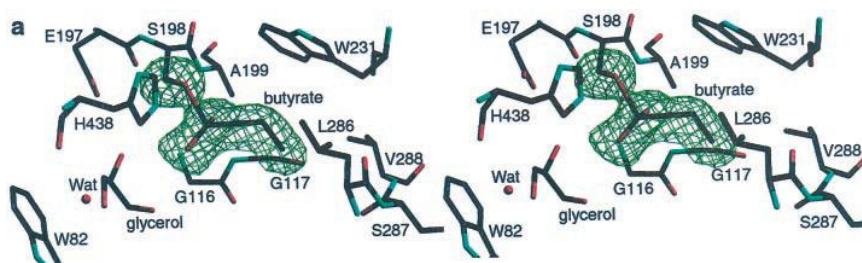


Figure 15. Paire stéréoscopique du site actif de la BChE vue de l'entrée de la gorge (Nicolet *et al.*, 2003).

### III-3- L'évaluation de l'activité anti-cholinestérase

L'activité anticétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman (Figure 16).

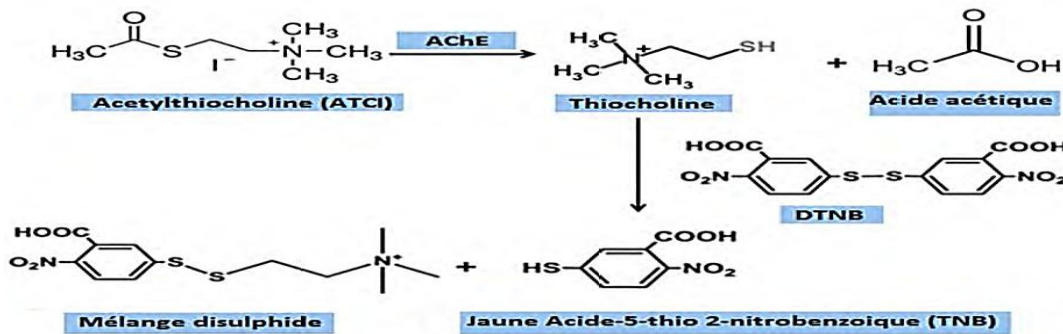


Figure 16. Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman (Ellman *et al.*, 1961)

- **Autres méthodes d'évaluation de l'activité anti-Alzheimer**

Outre la méthode d'Ellman, qui est la méthode la plus utilisée pour évaluer l'activité anticholinestérase, il existe d'autres méthodes et parmi lesquelles nous pouvons citer :

- L' HPLC couplée à l'UV (ultraviolet) et à la masse (MS) développée par Ingkaninan *et al.*, 2000), en présence de DTNB, ATCI et d'AChE (Hostettmann *et al.*, 2006).
- Les méthodes fluorimétriques par formation de thiocholine, après réaction avec un composé fluorogène (Hostettmann *et al.*, 2006).
- Une autre technique d'HPLC Rhee *et al.* Utilisaient le substrat : 7-acétoxy-1-méthyl quoliniumiodide (l'excitation 320 nm, l'émission 410 nm) qui est hydrolysé par l'AChE.
- La méthode de radiométrie qui mesure le taux d'hydrolyse de  $^{14}\text{C}$  de l'acétylcholine, dans de  $^{14}\text{C}$  l'acide acétique qui utilise un système compartimenté d'ionisation, et les méthodes basées sur la spectrométrie de masse (TOF-MS, LC-MS/MS) (Wall *et al.*, 2004)
- La CCM (chromatographie sur couche mince) elle se base aussi sur la méthode d'Ellman (Kiely *et al.*, 1991).
- La méthode basée sur l'enzyme immobilisée : un système d'injection de flux utilisant une enzyme immobilisée sur les particules magnétiques, a été décrite par Kindervater *et al.*, l'activité est mesurée soit par la méthode d'Ellman, soit par détection électrochimique (Hostettmann *et al.*, 2006).

### III-4- Les anti Alzheimer d'origine végétale

D'après Ahmed *et al.*, 2013 de nombreux phytoconstituants isolés principalement de Buxaceae, Chenopodiaceae, Lamiaceae, Rosaceae, Moraceae, Balsaminaceae, Bamsaminaceae, Apiaceae, Asclepiadaceae, Fabaceae, Coniferae, Labiatae, Asparagaceae, Fumariaceae, Lycopodiaceae, et Combretaceae, possèdent un potentiel anticholinestérase, c'est-à-dire des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase. Ces phytoconstituants sont principalement des alcaloïdes, des stérols, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des monoterpènes, des triterpènes, des glycosides, des xanthonés, des withanolides, et des stilbènes.

### IV- La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une méthode physico-chimique qui permet la détermination structurale des composés organiques. Elle permet aussi d'accéder à la masse moléculaire d'un produit et fournit des informations structurales, par l'étude des fragments moléculaires qu'elle engendre (deHoffmann *et al.*, 1999), c'est une technique hautement sensible pouvant détecter même des composants à l'état de traces d'un mélange complexe, elle est aussi spécifique (Prasain *et al.*, 2004).

### VI-1- Les différentes techniques d'ionisation en spectrométrie de masse

L'impact électronique (EI) et l'ionisation chimique (CI) ont apporté auparavant de nombreuses informations structurales, ce pendant nécessitaient des isolements préalables des constituants à étudier, et souvent des dérivations post-isolement en raison de la non volatilité des flavonoïdes (Ma *et al.*, 1997).

La désorption de champ (FD) a ensuite permis l'étude des flavonoïdes sans dérivation, mais posait des problèmes relatifs à la préparation des échantillons qui restreignaient l'application. On a également appliqué aux flavonoïdes d'autres techniques, telles que l'ionisation par bombardement d'atomes rapides (FAB) et l'ionisation chimique directe (DCI) (Stobiecki, 2000).

Ces dernières années, l'analyse des flavonoïdes par spectrométrie de masse s'est accrue avec le développement de techniques d'ionisation « douces » : l'electrospray (ESI) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI), qui ont en outre permis l'analyse de très faibles quantités d'échantillons bruts. L'ESI et l'APCI sont des techniques qui produisent principa-

lement des ions moléculaires pour des métabolites relativement de faibles masses moléculaires, tels que les flavonoïdes (Wolfender *et al.*, 2000).

### **VI-2-La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)**

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse est de nos jours la méthode de choix pour l'analyse des composés d'un mélange. En effet, elle permet de séparer souvent les isomères, de limiter la suppression d'ionisation et le bruit de fond, et contrairement à la GC/MS, elle présente l'avantage d'être applicable à l'analyse de composés non volatiles et/ou thermosensibles (Bowers et Sanaullah, 2005). La plupart du temps, la LC/MS autorise peu ou pas d'étape de traitement de l'échantillon. De plus, contrairement à la technique de GC/MS, les sources et les analyseurs utilisés en LC/MS permettent d'obtenir la masse moléculaire d'un métabolite et de réaliser ensuite des expériences complémentaires (MS/MS, MS<sup>n</sup>) afin de l'identifier (Werner, 2011).

### **VI-3- La chromatographie liquide couplée à la masse-trappe d'ion-temps de vol(LC-MS-IT-TOF)**

Le développement des analyseurs de masse comme : le quadrupole (Q), la trappe d'ion (IT) et le temps de vol (TOF) et spécialement, leur couplage afin de produire des hybrides tels que : Q-IT, IT-TOF et Q-TOF, rend l'analyse qualitative et quantitative globale, des composants d'une matrice végétale et biologique complexe réalisable. Avec une vitesse de scan rapide et une haute résolution, la technique TOF-MS est en train de gagner une popularité dans l'analyse des composants complexes et non ciblés, ce pendant elle n'a pas la capacité de la spectrométrie de masse séquentielle (stades multiples) (MS<sup>n</sup>). En particulier, les instruments (IT-MS) jouent un rôle crucial dans l'élucidation structurale des molécules par MS<sup>n</sup>, mais ils ont une basse résolution (généralement 1Da), quand ils sont couplés ensemble i.e. TOF-Q et TOF-IT, la mesure de masse précise des ions précurseurs et des ions produits, peut se faire simultanément par l'analyse TOF. Une telle caractéristique favorise la LC-IT-TOF-MS, comme un excellent outil pour l'analyse qualitative des composants complexes et non ciblés des végétaux (Wu *et al.*, 2012 ; Yener *et al.*, 2018).

**DEUXIEME PARTIE :**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**

## **MATERIEL & METHODES**

**Chapitre 1 :**  
**Criblage des plantes médicinales**  
**utilisées dans la région de**  
**Constantine-Mila**

## I- Interview

Un questionnaire a été remis auprès de 34 personnes de la population locale ayant 60 ans et plus et 45 herboristes dans les deux wilayas Constantine et Mila, déjà prévenues du contexte de l'étude, en outre un consensus préalable a été demandé verbalement selon Rosenthal, 2006.

L'interview a été réalisé sans pression ni limite de temps, permettant aux informateurs d'être à l'aise pour donner le maximum d'informations (Akerreta *et al.*, 2007) selon le code d'éthique ISE ([www.ethnobiology.net/ethics.php](http://www.ethnobiology.net/ethics.php)). Le questionnaire déjà préparé comporte deux parties, la première contient les informations suivantes : nom et prénom de la personne interrogée, âge, sexe et le niveau intellectuel. Quant à la deuxième partie, elle contient le nom vernaculaire de la plante (arabe, amazigh ou arabe littéraire), les parties utilisées, la méthode de préparation, l'usage thérapeutique, en posant aux personnes interrogées les questions suivantes :

- a) Quelle est la plante que vous connaissez, que vous utilisez ou que vous avez utilisée à des fins médicinales ?
- b) Comment vous l'utilisez ? (méthode de préparation, partie, mode d'administration)
- c) D'où vous l'avez obtenue ?
- d) Quelle est votre opinion sur son efficacité ?
- e) Cette plante a-t-elle des effets secondaires ?

La langue utilisée pendant l'interview était l'arabe ou le français, selon le niveau intellectuel de la personne interrogée, les personnes de la population locale ont été interrogées dans leurs maisons et les herboristes dans leurs locaux.

L'enquête menée sur les usages médicaux n'était validée que si la même plante était citée au moins trois fois indépendamment par des personnes différentes (Al-Qura'n, 2009 ; Boudjelal *et al.*, 2013).

Les spécimens ont été présentés à des herboristes, puis identifiés par les botanistes du laboratoire où des vouchers ont été déposés.



## Chapitre 1 : criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

---

Pour l'identification et l'enregistrement des taxons botaniques (noms scientifiques, vernaculaire, et synonymes), nous avons utilisé ces ouvrages comme références botaniques standards de la flore algérienne :

- Flore de l'Algérie, Ancienne Flore d'Alger Transformée (Battandier et Trabut, 1888, 1893).
- Index Synonymique et Bibliographique de la Flore d'Afrique du Nord (Dobignard et Chatelain, 2010, 2011, 2012).
- Les Plantes Médicinales en Algérie (Kaddem, 1990).
- Medicinal Plants in Algeria (Baba Aissa, 1991).
- Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales (Quezel et Santa, 1962–1963).
- Nous avons aussi consulté le site : [www.theplantlist.org](http://www.theplantlist.org) pour vérifier le nom scientifique et les synonymes des plantes citées.

### II- Zone d'étude

La ville de Constantine est située sur un haut plateau au nord-est de l'Algérie à 637 m d'altitude entre la côte et les oasis, elle couvre une superficie de 22,970 ha répartie entre 12 secteurs. Située à 87 km de la côte méditerranéenne, la ville jouit d'un climat continental: froid et humide en hiver, chaud et sec en été. C'est un carrefour important, qui relie le haut plateau et la côte ([www.andi.dz/PDF/monographies/Constantine.pdf](http://www.andi.dz/PDF/monographies/Constantine.pdf)). La ville de Mila se situe à 50 km de la ville de Constantine à 464 m d'altitude et à 33 km de la mer Méditerranéenne, elle se trouve dans la partie orientale de l'Atlas Tellien et est régie par trois microclimats : humide dans les reliefs montagneux du nord et la partie médiane, semi-aride à subhumide dans la partie médiane de la wilaya, et semi-aride dans les hautes plaines ([www.andi.dz/PDF/monographies/Mila.pdf](http://www.andi.dz/PDF/monographies/Mila.pdf)).

Ces villes sont caractérisées par une flore très variée, qui a attiré très tôt l'attention de botanistes tels que Hebenstreit, Poiret et Shaw (Andrien, 2013). Mais c'est après l'occupation française que la flore a été étudiée en détail par Bové (1837), Durrieu de Maisonneuve (1842), Battandier et Trabut (1888), Maire (1958) et Quezel et Santa (1962), considérés comme les

**Chapitre 1 : criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

---

premiers ouvrages spécialisés et qui sont aujourd'hui utilisés comme références botaniques, selon ces ouvrages, plus de 218 espèces de familles végétales différentes ont été recensées.

Au niveau du territoire des deux wilayas, la zone forestière est importante, elle couvre 13 % de la superficie totale de Constantine soit une surface de 27 566 ha et 9,68 % de la superficie totale de Mila soit une surface de 36 674 ha.

Les deux régions étudiées possèdent des potentialités économiques remarquables : l'agriculture avec une prédominance de la culture céréalière, le reste étant réparti entre les aliments pour animaux, les légumes secs et l'arboriculture, favorisés par des ressources en eau considérables : pluviométrie atteignant jusqu'à 506 mm à 1067 mm/an (<http://climate-data.org>). Ce potentiel hydrique a été renforcé par la construction du barrage de Beni-Haroun dans la wilaya de Mila.

D'importantes industries de la mécanique, des matériaux de construction, agro-alimentaire et pharmaceutique, ainsi que de l'élevage et l'agriculture. En ce qui concerne le potentiel touristique, ces villes possèdent un patrimoine archéologique, historique et culturel considérable : plusieurs grottes, ruines romaines, châteaux et mosquées Ottomanes ainsi que les sources thermales a des vertus thérapeutiques comme les Hammams de Tleghma, et les gorges du Rhumel ([www.interieur.gov.dz](http://www.interieur.gov.dz)).

**III- Indices quantitatifs**

Ils sont utilisés pour analyser les données, les plus utilisés sont cités ci-dessous :

• **Informant consensus factor (ICF)**

$ICF = (Nur - Nt)/(Nt - 1)$ , où Nur est le nombre total d'informations d'usage pour chaque catégorie de maladie et Nt est le nombre de taxons utilisés dans cette catégorie. Cet indice nous informe sur l'importance de l'homogénéité de l'information entre les informateurs. Les valeurs de l'ICF sont faibles (proche de 0) s'il n'y a pas d'échange entre les informateurs concernant l'usage des plantes et sont élevées (proche de 1) s'il y a un bon échange entre les informateurs (Trotter et Logan, 1986 ; Heinrich *et al.*, 1998).

- **Fidelity level (FL)**

$FL\% = (N_p/N \times 100)$ , où  $N_p$  est le nombre d'informateurs indiquant l'usage de telle plante pour traiter une catégorie de maladie particulière et  $N$  le nombre total d'informateurs citant la plante pour n'importe quelle catégorie de maladie. Un FL élevé indique une fréquence élevée de l'usage de la plante par les informateurs dans le traitement d'une catégorie de maladie particulière dans la zone étudiée (Friedman *et al.*, 1986).

- **Frequency citation et relative frequency citation (FC et RFC)**

FC (= nombre de fois où des espèces particulières ont été mentionnées/ le nombre total de fois où toutes les espèces ont été mentionnées  $\times 100$ ) (Tahira *et al.*, 2015) pour obtenir une meilleure expression relative de citations.  $RFC = FC/N$  où  $N$  est le nombre d'informateurs total sans tenir compte des catégories utilisées.

- **Use value (UV)**

Elle est calculée selon la formule suivante :

$$UV = \sum U / n$$

Où UV est la valeur d'usage pour une espèce donnée, U le nombre d'informations citées par chaque informateur pour une espèce donnée et n est le nombre total d'informateurs interviewés pour la plante. Elle nous informe sur les plantes connues localement (Musa *et al.*, 2011).

## **Chapitre 2 :**

**Profil phytochimique, activités  
antioxydante, antibactérienne et anti-  
cholinestérase de la plante *Bellevalia  
mauritanica* Pomel**

## I- Matériel végétal

La partie aérienne ainsi que la partie souterraine de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel ont été collectées de la commune d'Ibn Ziad N36° 21.807' et E006° 28.661' à 681 m, Constantine. L'identification botanique a été réalisée par le Dr Gérard de Bélair à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université Badji Mokhtar, Annaba. Voucher specimen: (107\_43). Les différentes parties ont été séchées dans un endroit sec à l'abri de la lumière.

## II- Schéma d'extraction de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

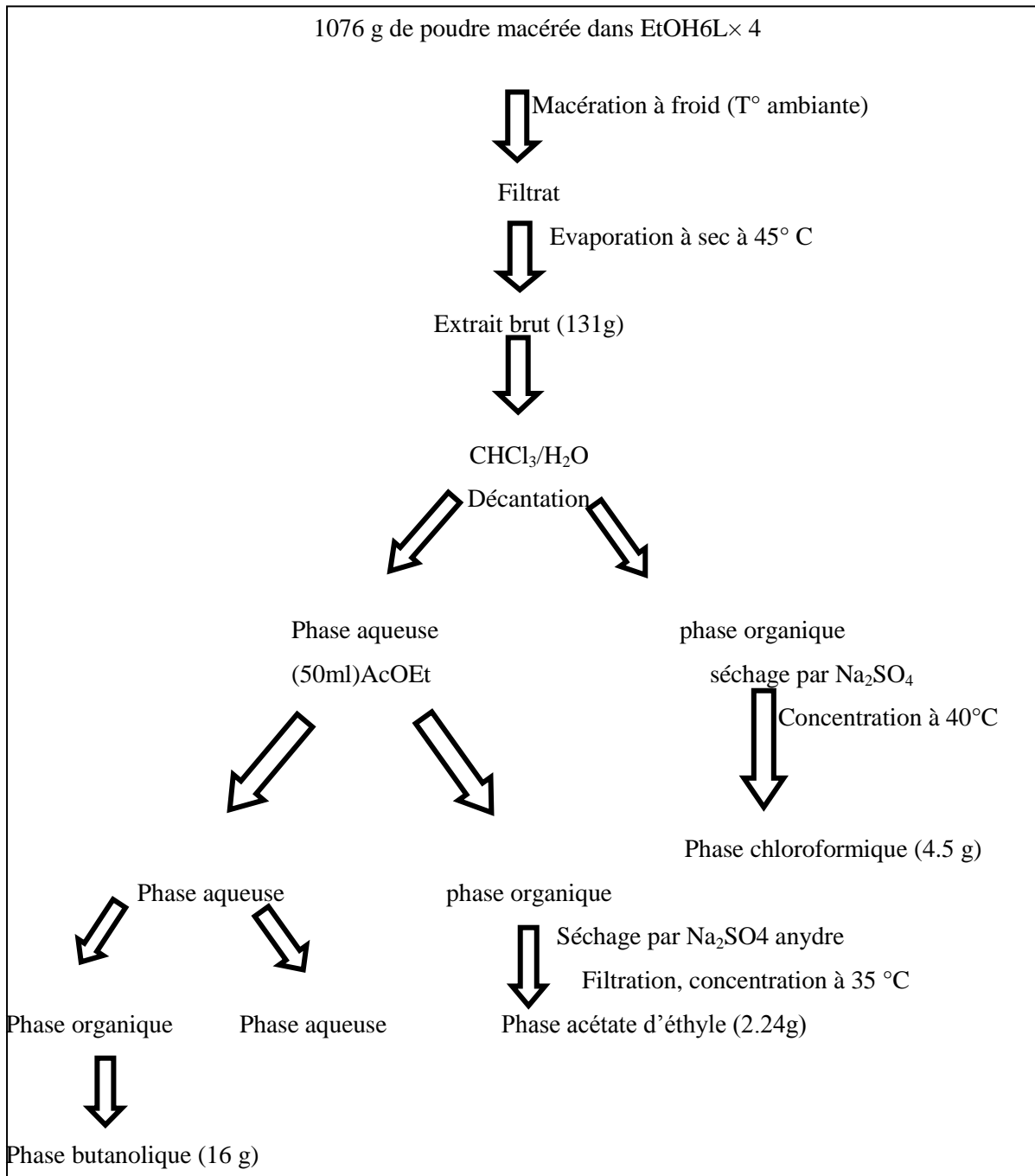
### II-1- Partie souterraine

Nous n'avons pas suivi un protocole bien déterminé en raison de l'absence de travaux antérieurs sur cette espèce, sauf certains réalisés sur 4 espèces du même genre *Bellevalia romana* (Adinolfi et al., 1998), *Bellevalia egii* (Alali et al., 2015), *Bellevalia flexuosa* (El-Elimat et al., 2018) ciblant un type bien déterminé de métabolites secondaires en l'occurrence : les homoisoflavanones, en plus d'une étude des activités biologiques des extraits de la plante *Bellevalia gracilis* (Çiçikoglu Yildirim et al., 2013).

Afin d'extraire le maximum de métabolites secondaires nous avons procédé ainsi :

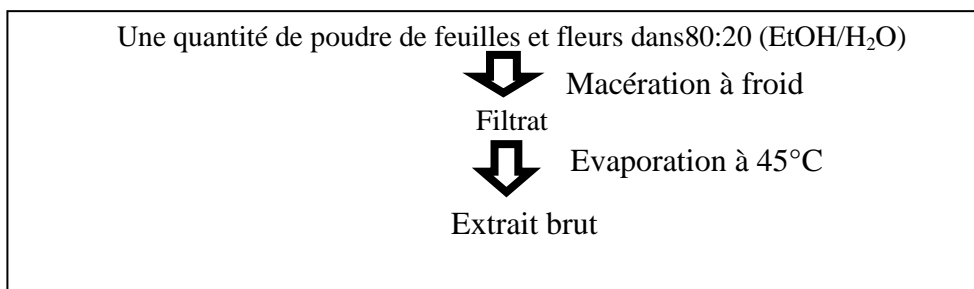
1076 g de poudre (bulbes-racines) a été macérée à température ambiante dans 6 L d'éthanol ×4, puis évaporé à sec à 40°C pour obtenir un extrait brut de 131 g, ensuite ce dernier a été réparti respectivement entre eau/chloroforme, Acétate d'éthyle et 1-butanol pour une extraction liquide-liquide selon le schéma d'extraction suivant :

Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibacterienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel



II-2- Partie aérienne

Pour l'extraction de la partie aérienne, nous avons procédé comme suit :



### III- Screening phytochimique préliminaire

La chromatographie sur couche mince (CCM) s'est effectuée sur gel de silice 60 déposé sur une plaque d'aluminium 0.20 mm, provenant de Macheray Nagel.

Un screening préliminaire sur plaque des principales familles de métabolites secondaires a été réalisé sur les extraits : l'EBPA et l'EBBR et ses phases  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc et BuOH.

#### III-1- La mise en évidence des saponines

La révélation des saponines par pulvérisation d'une solution d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )/éthanol (10:90) et chauffage à 110 °C, jusqu'à l'apparition de taches noires (Sharma *et al.*, 2012).

#### III-2- La mise en évidence des triterpènes

Un volume de 0.5 ml d'anisaldéhyde est mélangé dans l'ordre à 10 ml d'acide acétique glacial, 85 ml MeOH et 5ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ensuite pulvériser puis chauffé jusqu'à apparition d'une couleur violette (Wagner et Bladt, 1996).

#### III-3- La mise en évidence des anthrones et anthranols, quinones libres, dérivés anthracéniques et coumarines

Une solution 5-10% de KOH dans de l'éthanol, pulvériser sur plaque puis chauffer, les anthrones et anthranols apparaissent en jaune fluorescent sous UV 365 nm, apparition de couleurs pour les coumarines, apparition de couleur rouge en visible et rouge fluorescent sous UV 365 nm pour les dérivés anthracéniques (Wagner et Bladt, 1996).

#### III-4- La mise en évidence des tanins

La mise en évidence des tanins est réalisée par l'ajout de quelques gouttes de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) a 1 ml d'extrait dissout dans du méthanol. L'apparition d'une couleur bleu-noire est caractéristique des tanins galliques et l'apparition d'une couleur verte-bleue est caractéristique des tanins catéchiques (Wagner et Bladt, 1996).

#### IV- Dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes

Les extraits soumis aux dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'activité biologique sont : l'EBPA et l'EBBR et ses phases  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc et BuOH.

La lecture a été réalisée sur un lecteur de microplaques (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire).

##### IV-1- Polyphénols totaux

La détermination de la teneur d'un échantillon en polyphénols, se réalise par le test de Folin-Ciocalteu (Vernon et *al.*, 1999). Le principe de ce test est un phénomène d'oxydo-réduction non spécifique à un type de polyphénols, cependant la méthode perd sa fiabilité en présence de certains composés qui peuvent interférer, comme les acides aminés de type tyrosine et certains composés non phénoliques tel que l'acide ascorbique (Dykes et Rooney, 2006).

Le réactif FCR est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ). En milieu alcalin le Folin-Ciocalteu se réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorbance maximale aux environs de 750 -765 nm.

Le mode opératoire a été le suivant :

1mg/ml d'extrait et ses dilutions ont été préparés préalablement. 20  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante, 100 $\mu\text{l}$  de FCR dilué (1:10) et 75  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium (7,5%) ont été mélangés dans une microplaque et mis à l'obscurité pendant 2H, enfin lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

- **Gamme d'étalonnage de l'acide gallique**

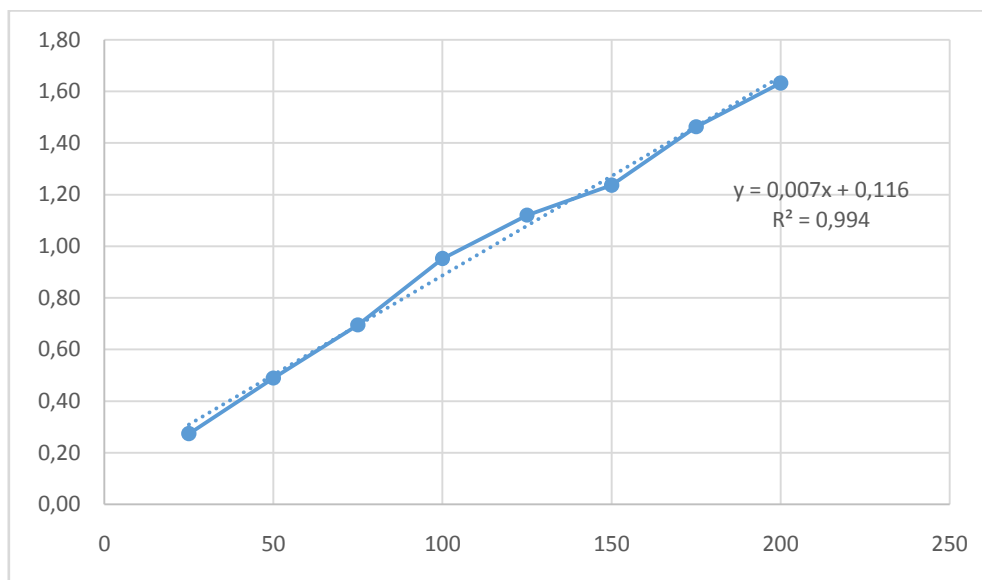
Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique :

0,5 mg d'acide gallique ont été dissouts dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution  $S_1$  (0,1 mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs pour obtenir une courbe d'étalonnage (Figure 17).



## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque et mélangés avec 100 µl FCR (1:10) et 75µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonate de sodium 7,5%), ensuite incubation de 2h, enfin lecture à 765nm.



**Figure 17. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

### IV-2- Flavonoïdes totaux

Une masse de 1 mg d'extrait a été dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S<sub>2</sub>).

Dans une microplaque de 96 puits, 50 µl (S<sub>2</sub>) qui est l'extrait de plante, 130 µl (MeOH), 10 µl (S<sub>1</sub>)(CH<sub>3</sub>COOK) et 10 µl (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 9H<sub>2</sub>O) ont été mélangés, ensuite attendre 40 mn pour incubation, enfin lecture à 415 nm. Un échantillon blanc est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol) (Türkoğlu *et al.*, 2007).

- **Préparation de la gamme d'étalonnage de la Quercetine**

1 mg de Quercetine dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution S<sub>m</sub> (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs pour obtenir une courbe d'étalonnage (Figure 18).

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibacterienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

50  $\mu\text{l}$  de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits en ajoutant 130  $\mu\text{l}$  (MeOH), 10  $\mu\text{l}$  (S<sub>1</sub>)(CH<sub>3</sub>COOK) et 10  $\mu\text{l}$  (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 9H<sub>2</sub>O), ensuite incubé pendant 40 minutes, enfin lecture à 415 nm.

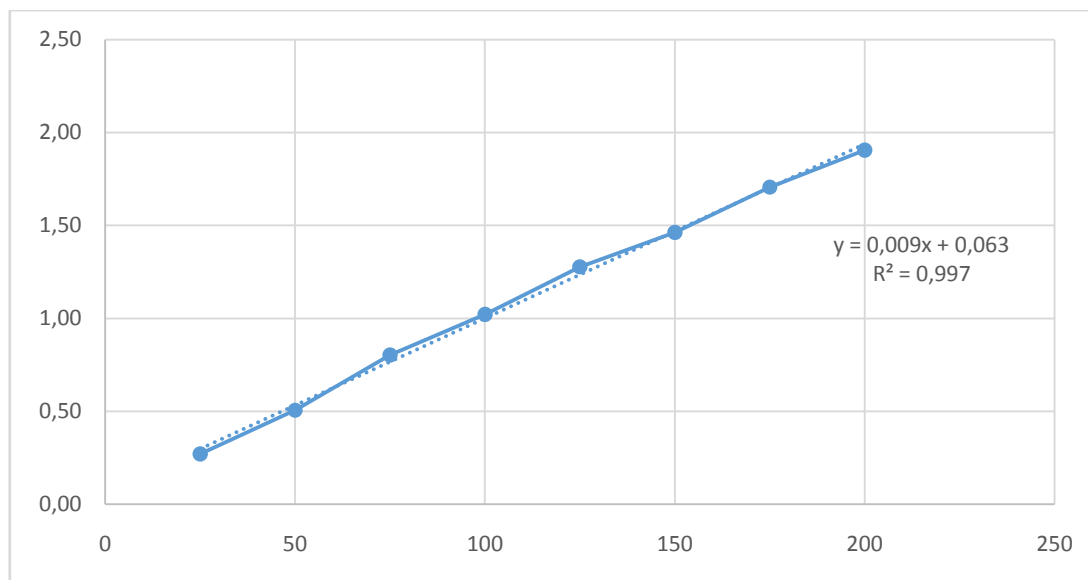


Figure 18. La courbe d'étalonnage de la quercétine

### V- Activités biologiques

Les extraits étudiés ont été dissous dans du méthanol sauf pour l'activité anticholinestérase ou le solvant utilisé été l'éthanol, en partant d'une solution mère de 800  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

#### V-1- Activité antioxydante

##### V-1-1- Activité de piégeage du DPPH<sup>\*</sup>

L'activité du DPPH<sup>\*</sup> a été mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH<sup>\*</sup>(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH<sup>\*</sup> absorbe à 517 nm, cependant son absorbance diminue suite à son piégeage par un agent antioxydant.

L'effet de piégeage du radical DPPH<sup>\*</sup> des extraits était comparé avec celui de l' $\alpha$ -tocophérol et du BHA utilisés comme standards.

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH<sup>\*</sup> est calculé selon la formule suivante :

$$(Inhibition \%) = \frac{A_{standard} - A_{Echatillon}}{A_{Standard}} \times 100$$

160 µl (DPPH) + 40 µl (extrait à différentes concentrations) ont été mis dans des microplaques de 96 puits, ensuite ces dernières ont été mises en incubation de 30 mn à l'abri de la lumière, enfin lecture à 517 nm.

### V-1-2- Activité de piégeage de l'ABTS<sup>•+</sup>

L'activité de piégeage de l'ABTS<sup>•+</sup> a été évaluée selon le protocole de (Re *et al.*, 1999). A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H, ils réagissent pour produire le chromophore l'ABTS<sup>•+</sup>; l'absorbance de la solution ainsi obtenue et ajustée par l'Ethanol ou H<sub>2</sub>O entre 0.700 ± 0.020 a été mesurée à 734 nm avant usage. ABTS<sup>•+</sup> est capable de réagir avec des antioxydants de type phénols, thiol, et tout composé donneur de H<sup>+</sup> ou d'e<sup>-</sup>. Le pouvoir antioxydant des extraits était comparé avec celui du BHA et BHT utilisés comme contrôles positifs.

L'activité ABTS<sup>•+</sup> a été exprimée en pourcentage et calculée selon l'équation suivante :

$$(Inhibition \%) = \frac{A_{Blanc} - A_{Echatillon}}{A_{Blanc}} \times 100$$

160 µl (ABTS<sup>•+</sup>) et 40 µl (extrait à différentes concentrations) ont été mis dans des microplaques de 96 puits, ensuite ces dernières ont été mise en incubation de 10 mn à l'abri de la lumière, enfin lecture à 734 nm.

### V-1-3- Superoxyde DMSO alcalin

Le DMSO alcalin produit le O<sub>2</sub><sup>-</sup> qui réagit avec le NBT (NitroBlueTetrazolium) en le réduisant (Rao et Kunchandi, 1990). En présence d'un agent piégeur (phénols, cétones styryl) ce dernier inhibe la réduction du NBT qui est mesurée à 560 nm. Le pouvoir de piégeage de l'anion superoxyde des extraits était comparé avec celui de l'α-tocophérol et l'acide ascorbique utilisés comme contrôles positifs.

L'effet de piégeage de l'anion superoxyde est calculé selon la formule suivante :

$$(\text{Inhibition } \%) = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

40  $\mu\text{l}$  (extrait à différentes concentrations) et 130  $\mu\text{l}$  DMSO alcalin (20 mg de NaOH est dissoute dans 1 ml de DMSO et compléter par le DMSO à 100 ml) en plus de 30  $\mu\text{l}$  NBT (10 mg dans 10 ml d'eau distillée) ont été mis dans des microplaques de 96 puits et lecture à 560 nm.

#### V-1-4- Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC)

Le test CUPRAC a comme principe de réduire le complexe néocuprine-cuivre ( $\text{NC}_2\text{-Cu}^{+2}$ ) en présence d'un agent antioxydant (acides phénoliques, acides hydroxy cinnamique, anthocyanines) par conversion des hydroxyles en quinones qui se traduit par la diminution de l'absorbance du complexe ( $\text{NC}_2\text{-Cu}^{+2}$ ). Ce test résulte de la réaction de trois solutions avec l'extrait (Apak *et al.*, 2004) :

Une solution transparente S1 (pH=7.0) d'Acétate d'ammonium ( $\text{ACNH}_4$ ) 1,927 g dans 25 ml ( $\text{H}_2\text{O}$ ), une solution S2 bleue de ( $\text{Cu Cl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ ) 0,042625 g dans 25 ml ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et une solution S3 de (Neocupronin) 0,039 g dans 25 ml (EtOH). La capacité de réduction du complexe néocuprine-cuivre des extraits a été comparée avec celle de l' $\alpha$ -tocophérol et du BHT utilisés comme standards. Les résultats ont été exprimés en terme de  $A_{0,5}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) qui correspond à une absorbance de 0,500.

40  $\mu\text{l}$  (extrait à différentes concentrations), 60  $\mu\text{l}$  (S1), 50  $\mu\text{l}$  (S3) et 50  $\mu\text{l}$  (S2) ont été mélangés dans des microplaques de 96 puits, ensuite ces dernières ont été mises en incubation pendant 1 heure puis lecture à 450nm.

#### V-2- Activité anticholinestérase

L'étude de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE) a été mesurée par la méthode spectrophotométrique décrite par Ellman *et al.*, (1961) avec une modification légère.

AChE de l'anguille électrique et BChE du sérum de cheval ont été employées, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure de butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrats. Le DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] a servi à mesurer l'activité de la cholinestérase.

L'éthanol a été utilisé comme solvant pour dissoudre les composés d'essai 0 (extraits) et les contrôles. Le protocole est le suivant 150 µl de tampon phosphate de sodium (100Mm, pH 8,0), 10 µl d'une solution d'échantillon à différentes concentrations et un volume de 20 µl l'AChE ( $5,32 \times 10^{-3}$  U) ou BChE ( $6,85 \times 10^{-3}$  U) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25°C puis 10 µl de DTNB (0,5 mM) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou le chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). Les hydrolyses de ces substrats ont été suivies par spectrophotométrie par la formation d'une couleur jaune d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate deméthyle, selon le résultat de la réaction de DTNB avec thiocholine, libéré par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou le chlorure de butyrylthiocholine, respectivement, à une longueur d'onde de 412 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE a été déterminé par comparaison des vitesses de réaction des échantillons par rapport à l'échantillon témoin (éthanol dans du tampon phosphate, pH 8) en utilisant la formule :

$(E - S) / E \times 100$ , où E est l'activité de l'enzyme sans échantillon d'essai, et S, est l'activité de l'enzyme avec l'échantillon de test. Les expériences ont été effectuées en trois répétitions. La galantamine a été utilisée comme standard.

### V-3- Activité antibactérienne

- **Préparation des extraits et des disques**

100 mg d'extrait sont dissouts dans 1 ml de DMSO, puis une gamme de 7 dilutions est préparée en partant de 1/1(solution mère) jusqu'à 1/64. Un disque de papier Wattman de 5 mm de diamètre est imbibé des différentes dilutions (10 µl d'extrait chacun) (Biondi *et al.*, 1993). Trois répétitions sont réalisées, contre sept souches de référence à savoir : *Morganella morganii* (ATCC 25830), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Echerichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) et *Protus vulgaris* (ATCC 29905) obtenues de l'institut Pasteur (Alger, Algérie), conservées préalablement dans du glycérol (80%), ensuiteensemencées et incubées sur gélose nutritive à 37°C pendant 24H. les suspensions bactériennes (4-5) sont introduites dans des tubes à essai contenant NaCl (0,9%) puis agitées a l'aide d'un vortex, ensuite la densité optique est mesurée de 0,08 jusqu'à 0,10 ce qui correspond à 0,5 Mc Farland.

## VI- Conditions de l'analyse LC-MS/MS

### • Préparation des extraits

1g d'extrait dissouts dans 1000 ml de méthanol, transféré dans des piluliers de 2 ml de volume puis filtré via un microfiltre de 0,2 µm de diamètre.

L'instrument LC-MS/MS est constitué de :

- Une UHPLC Shimadzu combinée à un spectromètre de masse LC-MS triple quadripolaire (modèle 8040).
- Une pompe (modèle LC-30 AD).
- Un dégazeur (modèle DGU-20A3).
- Un four de colonne (modèle CTO-10ASvp).
- Un injecteur automatique (modèle SIL-30AC).
- Une colonne phase inverse RPC18 Inertsil (modèle ODS-4) (100 mm×2,1 mm, 2 µm), T° 35°C pendant l'analyse.

Deux phases mobiles sont préparées :

La phase A : l'eau ultra pure contenant 5 µM NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> et 0.1% d'acide formique, la phase B : le méthanol contenant 5 µM NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> et 0.1% d'acide formique avec le gradient linéaire suivant : 5-20% B (0-10 min), 20% B (10-22 min), 20-50% B (22-36 min), 95% B (36-40 min) et 5% B (40-50 min). Le volume d'injection et le débit de la phase mobile sont de 4 µL et 0.25 mL/min respectivement.

## VII- Conditions de l'analyse HPLC-MS-IT-TOF

### • Préparation des extraits

1g d'extrait dissouts dans 1000 ml de méthanol, transféré dans des piluliers de 2 ml de volume puis filtré via un microfiltre de 0,2 µm de diamètre.

Les valeurs optimales des paramètres de la source d'ionisation ESI du spectromètre de masse étaient comme suit :

- la température de l'interface 350 °C.
- La température de la ligne de désolvation (DL) : 250 °C.

**Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

---

- La température du bloc de chauffage : 400 °C
- Le débit du nébuliseur et du gaz de séchage (N<sub>2</sub>) : 3 L/min and 15 L/min respectivement.

L'instrument LC-MS-IT-TOF est une combinaison de :

- Une Shimadzu UHPLC et un IT-TOF-MS, un spectromètre de masse à haute résolution.
- Un injecteur automatique (modèle SIL-20AC).
- Une pompe (modèle LC-20 AD).
- Un dégazeur (modèle DGU-20A3).
- Un four de colonne (modèle CTO-10AC).
- Un module de communication (CBM-20A).
- Une colonne phase inverse Agilent Eclipse XDB (150 mm, 4.6mm, 3.5µm) utilisée pour la séparation des analytes.

Deux phases mobiles sont préparées : la phase A : l'eau ultra pure contenant 5 µM NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> et 0.1% d'acide formique, la phase B : le méthanol contenant 5 µM NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> et 0.1% d'acide formique avec le gradient linéaire suivant : 7.5% B (0-5 min), 7.5-95% B (5-45 min), 95% B (7 min), 7.5% B (13 min). Le volume d'injection et le débit de la phase mobile sont de 4 µL et 0.35 mL/min respectivement.

L'hybride spectromètre de masse à haute résolution utilisé (IT-TOF-MS) fonctionne dans les deux modes d'ionisation ESI positif et négatif.

Les conditions optimisées du spectromètre de masse (MS) étaient comme suit :

- Modes d'ionisation positifs et négatifs, pression du gaz de séchage (N<sub>2</sub>) 100 kPa et débit du gaz nébuliseur 1.5 L/min.
- La température du bloc de chauffage 200 °C.
- La température de CDL (ligne incurvée de désolvatation) : 200° C.
- Le voltage de l'électrospray : 4.5 kV, le voltage du détecteur : 1.63 kV, intervalle de masses :  $m/z$  100–1000 (MS1), pression de l'IT :  $1.8 \times 10^4$  Pa, pression du TOF :  $1.4 \times 10^4$  Pa, le temps d'accumulation : 30msec.

**Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

---

- Les logiciels LC-MS Solution Version 3.4.1 (Shimadzu, Japan) et Formula Predictor ont été utilisés pour l'analyse des données.



## **RESULTATS & DISCUSSION**

**Chapitre 1 :**

**Criblage des plantes médicinales**  
**utilisées dans la région de**  
**Constantine-Mila**

**Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

---

Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont été effectuées à travers le monde, dont la plus part d'entre elles ont été réalisées à travers la région du bassin méditerranéen en raison de la diversité et la richesse floristique de ce dernier, ainsi que la culture du soin par les plantes médicinales qui y est très courante (Dafni *et al.*, 1984 ; Merzouki *et al.*, 2000 ; Pieroni, 2000 ; Said *et al.*, 2006 ; Gonzales *et al.*, 2008 ; El beyrouthi *et al.*, 2008 ; Parada *et al.*, 2009 ; Gurdal et Kultur, 2012 ; Benitez *et al.*, 2010 ; Fakchich et elachouri, 2014 ; Tuttolomondo *et al.* (2014a) ; Tuttolomondo *et al.* (2014b) ; Guler *et al.*, 2015 ; Guzel *et al.*, 2015 ; Jaradat *et al.*, 2016) et une autre au Qatar (Prakash *et al.*, 2015). D'autres sont purement ethnopharmacologiques, c'est-à-dire qu'elles s'intéressent aux composés actifs que la plante renferme ainsi qu'à leurs propriétés pharmacologiques (Elbeyrouthi *et al.*, 2008 ; Telli *et al.*, 2015 ; Gruca *et al.*, 2015) avec parfois des évaluations d'une activité biologique donnée (Ljubuncic *et al.*, 2005; Bourdy *et al.*, 2008 ; El-seedi *et al.*, 2012). En Algérie, malgré la richesse floristique ainsi que le savoir ethnobotanique élevé de la population locale qui utilise beaucoup les plantes médicinales et aromatiques pour se soigner, à l'instar des autres régions méditerranéennes, ces investigations restent restreintes (Hamiche et Maiza, 2006; Boudjelal *et al.*, 2013; Benhamza et djerrou, 2014; Benarba *et al.*, 2015 ; Telli *et al.*, 2015 ; Ouelbani *et al.*, 2016).

Dans ce chapitre nous envisageons d'investiguer les plantes médicinales utilisées dans notre région afin de protéger ces pratiques traditionnelles, surtout que ce savoir est transmis verbalement et risque d'être perdu.

Les résultats obtenus ont été publiés sous forme d'un article s'intitulant : ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-east of Algeria).

### I- Caractéristiques démographiques des informateurs

79 informateurs entre herboristes (45) et population locale (34) ont été interrogés et divisés en six groupes, selon l'âge (Tableau 5). Ces personnes présentent un savoir ethnobotanique élevé, notamment chez les vieux (entre 61 ans et 90 ans) pour la population locale dont la majorité sont des femmes (91%), cette catégorie a été choisie en raison du savoir ethnobotanique transmis de génération en génération, car dans le temps on préférerait se traiter par ces plantes pour leur accessibilité et efficacité, la catégorie d'âge comprise entre 61 et 70 ans était la plus dominante (56%) avec une moyenne d'âge de 65,5 ans. Concernant les herboristes la majorité qui exercent cette profession était des jeunes (entre 30 et 40 ans) avec une moyenne d'âge de 35 ans, qui eux aussi ont hérité leur savoir ethnobotanique de leurs ascendants, tandis que la catégorie d'âge qui a cité le plus grand nombre de plantes était celle comprise entre 51 et 60 ans. En comparant les deux moyennes d'âge citées dans la présente étude, avec celles obtenues dans d'autres études réalisées à travers le bassin méditerranéen, la moyenne d'âge de la population locale 65,5 ans était proche à celles observées en Europe (Chypre (zone de Paphos) : 63, Italie (régions d'Emilie Romagne et Toscane) : 63, Espagne (province de Huelva) : 65, Albanie (province de Kelmend) : 68 et presque proche à celles observée au Maroc (cercle de Ouezanne) et en Egypte (Sinai et Delta du Nil) 55 et 50 ans, respectivement (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008), quant aux herboristes dont la moyenne d'âge était 35 ans, elle représente la moyenne d'âge la plus faible par rapport à ces régions, ceci pourrait indiquer que le savoir ethnobotanique dans ces deux villes pourra être mieux conservé par cette jeune génération.

**Tableau 5.**Données démographiques des informateurs interrogés et le nombre de plantes citées

	Nombre d'informateurs		Nombre de plantes citées
	Herboristes	Population locale	
<b>Total</b>			102
	45	34	/
<b>30-40</b>	24	/	68
<b>41-50</b>	7	/	84
<b>51-60</b>	8	/	89
<b>61-70</b>	6	19	66
<b>71-80</b>	/	12	40
<b>81-90</b>	/	3	12
<b>Niveau intellectuel</b>			
<b>Primaire</b>	6	/	87
<b>Secondaire</b>	30	/	82
<b>Universitaire</b>	9	/	79

## II- La diversité des plantes médicinales

Dans cette étude 102 plantes appartenant à 90 genres distribuées à travers 53 familles ont été citées par les informateurs, avec la dominance des : Lamiaceae, Apiaceae et Asteraceae (30%, 13%, et 11% respectivement) (Figure19), ceci pourrait être expliqué par la teneur de ces familles en polyphénols et flavonoïdes (Miliauskasa *et al.*, 2004; Khaled Khoudjaa *et al.*, 2014; Maulidiani *et al.*, 2014; Brahmi *et al.*, 2015; Martinsa *et al.*, 2016). La dominance des familles botaniques dans la présente étude est similaires à celle trouvée dans d'autres régions Algériennes (Boudjelal *et al.*, 2013; Benarba *et al.*, 2015; Hammiche & Maiza, 2015) et méditerranéennes (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008; Benitez *et al.*, 2010; Fakchiche & Elachouri, 2014; Tuttolomondo *et al.*, 1014a, 2014b).

Les espèces citées dans la présente étude appartenaient principalement aux herbes (51%), arbustes (25%), arbres (13%), arbrisseaux (4%), petits buissons et plantes rampantes (2%), ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés au Pakistan (Ghulam *et al.*, 2015), ce pendant au Qatar les plantes citées dans l'étude étaient principalement des herbes et des arbres (Prakash *et al.*, 2015).

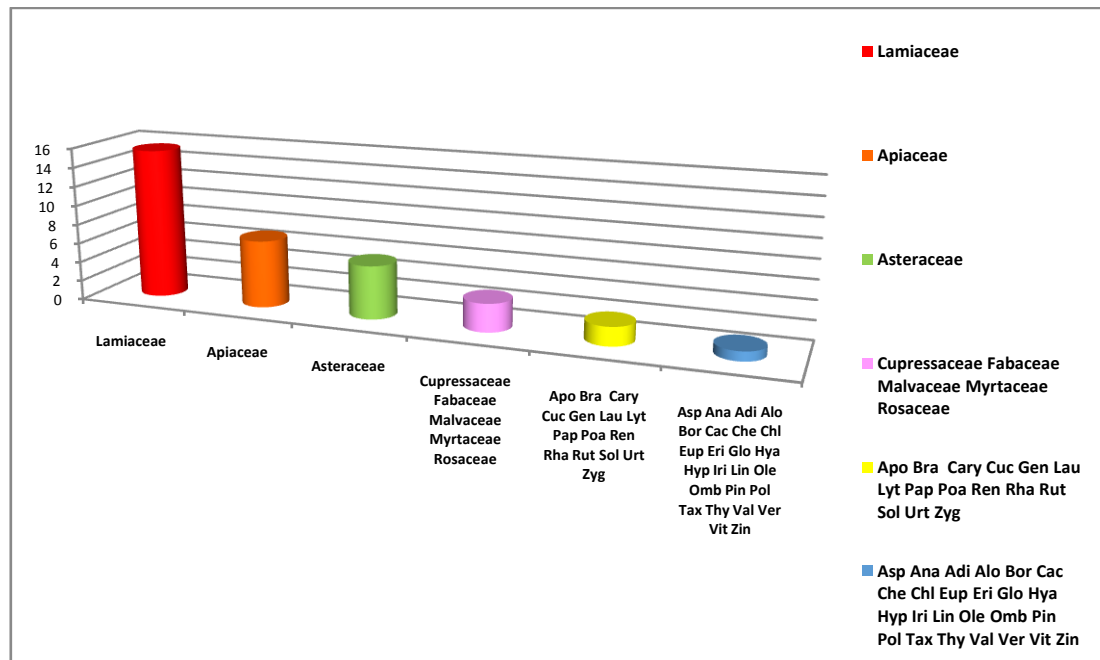
**Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

---

Ces similarités ou différences s'expliquent par la nature de la flore, le climat et la situation géographique de ces pays.

La diversité citée dans la présente étude et dans celle de Mascara (141 plantes) (Benarba et *al.*, 2015), pourrait être considérée comme importante par rapport aux autres études réalisées en Algérie : Tassili N'Ajjer (80plants) (Hammiche et Maiza, 2015) et M'sila (58plants) (Boudjelal et *al.*, 2013), tandis qu'elle était moins importante en comparaison avec celles trouvées dans d'autres régions méditerranéennes : 335 plantes (Catalogne, Espagne) (Parada et *al.*, 2009), 224 plantes (Grenade, Espagne) (Benitez et *al.*, 2010), 222 plantes (Antakya, Turquie) (Güzel et *al.*, 2015), 148 plantes (l'Est du Maroc) (Fakchich et Elachouri, 2014), et 121 plantes (iles Baléares) (Carrió et Vallès, 2012). Cette différence pourrait être expliquée par l'extension de la région étudiée, la nature du sol, le climat ou la différence de méthodologie suivie dans la réalisation de l'enquête. Toutes les plantes citées ont le même nom vernaculaire dans les différentes communes des deux wilayas, ceci indique une grande homogénéité de nomenclature dans la région signifiant ainsi que les plantes sont utilisées sans aucun risque car elles ont la même identification dans les deux wilayas.

## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila



Apo: Apocynaceae, Bra:Brassicaceae, Cary: Caryophyllaceae, Cuc :Cucurbitaceae ,Gen : Gentianaceae, Lau : Lauraceae, Lyt : Lythraceae, Pap: Papaveraceae, Poa: Poaceae, Ren: Renonculaceae, Rha: Rhamnaceae, Rut: Rutaceae, Sol: Solanaceae, Urt: Urticaceae, Zyg: Zygophyllaceae. Asp: Asphodelaceae, Ana: Anacardiaceae, Adi: Adiantaceae, Alo: Aloaceae, Bor: Boraginaceae, Cac: Cactaceae, Che: Chenopodiaceae, Chl: Cholchicaceae, Eup: Euphorbiaceae, Eri: Ericaceae, Glo: Globulariaceae, Hya: Hyacinthaceae, Hyp: Hypochoeraceae, Iri: Iridaceae, Lin:Linaceae, Ole: Oleaceae, Omb: Umbellifères, Pin: Pinaceae, Pol : Polygonaceae, Tax: Taxaceae, Thy: Thymelaeaceae, Val: Valerianaceae, Ver: Verbenaaceae, Vit: Vitaceae, Zin: Zingiberaceae.

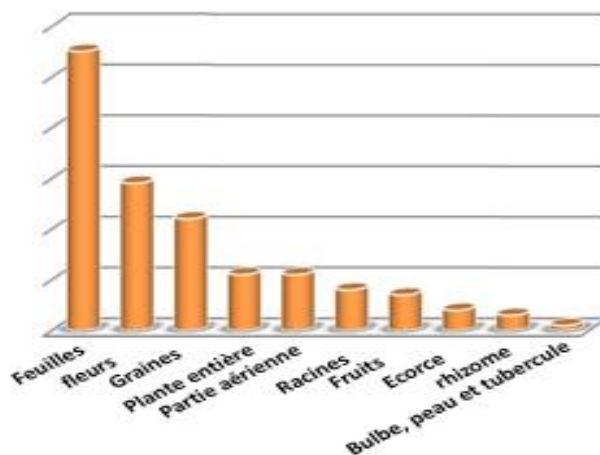
**Figure 19.** Les familles botaniques des plantes citées

### III- Les parties utilisées des plantes médicinales citées

Les parties les plus utilisées étaient les feuilles (55%) étant faciles à obtenir suivies par les fleurs (29%) et les graines (22%) (Figure 20).

Les feuilles sont les plus fréquemment utilisées dans plusieurs enquêtes ethnobotaniques (Parada *et al.*, 2009; Benitez *et al.*, 2010; Carrió et Vallès, 2012; Tahira *et al.*, 2015; Tuttolomondo *et al.*, 2014a; Benarba *et al.*, 2015; Güzel *et al.*, 2015), nous pouvons pas négliger l'importance des autres parties, par ailleurs ceci pourrait être expliqué par le fait que les informateurs ont hérité un savoir traditionnel, plutôt qu'un savoir scientifique (Boudjelal *et al.*, 2013), en outre ça permet la conservation de la plante (Kadir *et al.*, 2012, 2013), en

effet si on arrache la plante entière ça pourrait engendrer sa disparition (Telefo *et al.*, 2004) en plus de leur abondance par rapport aux autres parties (Yemele *et al.*, 2015).



**Figure 20.** Les parties des plantes les plus utilisées par les informateurs à des fins thérapeutiques

#### IV- Les méthodes de préparation

Deux modes d'administration ont été prescrits : interne (infusion, décoction et macération) et externe (cataplasme et macération à l'huile).

La méthode de préparation la plus utilisée était l'infusion (72%) suivie de la décoction (45%) (Figure 21), résultats similaires à ceux trouvés dans des enquêtes ethnobotaniques réalisées en Algérie et d'autres régions du bassin méditerranéens (Parada *et al.*, 2009; Benitez *et al.*, 2010; Boudjelal *et al.*, 2013; Fakchich et Elachouri, 2014; Tuttolomondo *et al.*, 2014a, 2014b; Tahira *et al.*, 2015; Benarba *et al.*, 2015; Hammiche et Maiza, 2015; Güzel *et al.*, 2015). Ceci pourrait être expliqué par le fait que ces deux méthodes utilisent la chaleur qui accélère l'extraction des principes actifs rapidement (Kayani *et al.*, 2015), cependant l'usage du cataplasme, la macération et l'huile représentent les pourcentages les plus faibles (13%, 7% et 1% respectivement). La plus part de ces préparations utilisent l'eau comme liquide extracteur (Mood, 2008; Andrade-Cetto, 2009).

Il a été rapporté que certaines plantes sont utilisées seules, tandis que d'autres sont utilisées avec un adjuvant (16%), principalement le miel (70%) surtout pour tolérer le goût amer de certaines plantes suivi de l'huile d'olive (23%) pour apaiser les effets secondaires de certaines



## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

plantes comme le Thapsia (*Thapsia garganica* L.) et le lait (7%). En outre certaines d'entre elles ne sont pas utilisées uniquement pour se traiter, mais aussi elles ont un usage culinaire à savoir : *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Crocus sativus* L., *Ocimum basilicum* L., *Lavandula stoechas* L., *Mentha pulegium* L., *Mentha x piperita* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry, *Nigella damascena* L., *Zingiber officinale* Roscoe.

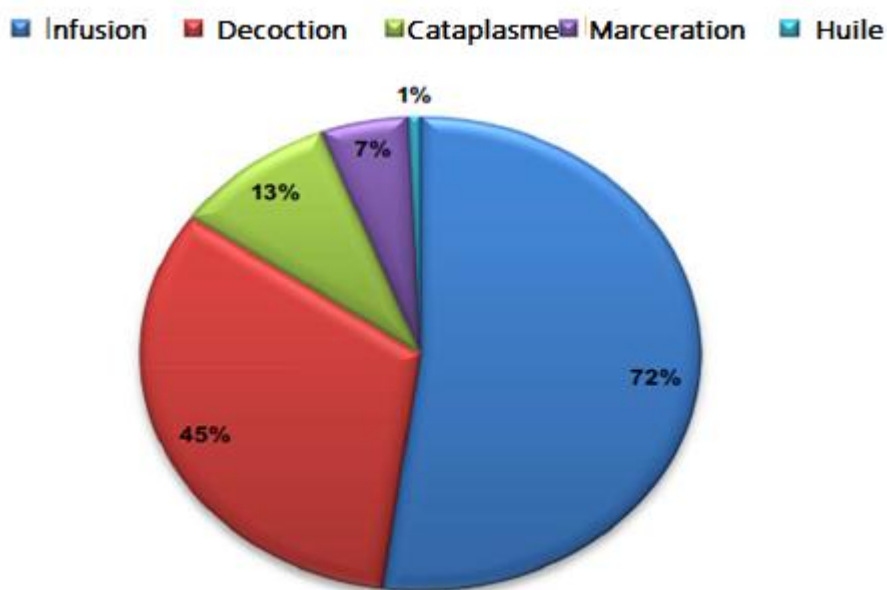


Figure 21. Les méthodes de préparation les plus utilisées par les informateurs

### V- Les espèces les plus fréquemment citées et leurs usages médicaux

Les plantes les plus citées sont celles ayant 20 citations et plus, 86% de ces plantes traitent 3 maladies et plus, 8% traitent une seule maladie et 6% traitent 2 maladies.

La fréquence de citation élevée pourrait être expliquée par le fait que ces plantes sont les plus connues et les plus utilisées par les informateurs. Dans cette étude *Origanum glandulosum* Desf. utilisé dans le traitement des maladies du système gastro-intestinal avait le nombre de citation le plus élevé (57), ce genre était le plus cité dans d'autres régions méditerranéennes : Albanie (*Origanum vulgare*) et Maroc (*Origanum majorana*) (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008), suivi par *Rosmarinus officinalis* (49) et *Artemisia Herba Alba* Asso. (47) utilisées pour le traitement des mêmes maladies, les mêmes usages médicaux de la plante *Artemisia Herba Alba* Asso. ont été rapportés dans d'autres régions en Algérie

**Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

---

(Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008), *Spergularia Rubra* (L.) J.Presl & C.Presl (34) utilisée pour le traitement des maladies du système urinaire, gynécologique et appareil reproductif et *Eucalyptus globulus* Labill. utilisée dans le traitement des maladies du système respiratoire avec 33 citations, cette même espèce a été citées dans l'enquête de Mascara (Benarba *et al.*, 2015).

Les usages médicaux des plantes citées par les informateurs traitent 13 catégories de maladies (nous ne prenons pas en considération la catégorie santé générale dans la comparaison).

La catégorie des maladies du système gastro-intestinal (16%) était la catégorie la plus traitée, mêmes résultats trouvés dans des enquêtes de plusieurs pays méditerranéens (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008), la seconde catégorie était les maladies du système urinaire, gynécologique et appareil reproductif (14%) et en troisième position les maladies du système respiratoire (11%), ce qui correspond bien aux maladies aiguës et chroniques traitées par les plantes médicinales.

## **VI- Nouveaux résultats**

En comparant les résultats de la présente étude avec ceux d'autres enquêtes, pour la première fois parmi 102 plantes citées, 28 nouvelles espèces ont été mentionnées par rapport aux enquêtes réalisées en Algérie et 12 nouvelles espèces par rapport aux enquêtes réalisées en d'autres régions du monde. Quant aux usages médicaux, par rapport à 31 espèces communes en Algérie, 159 nouveaux usages médicaux ont été mentionnés dans la présente étude tandis que par rapport à 75 espèces communes avec d'autres régions du monde, 369 nouveaux usages médicaux ont été mentionnés.

On a observé ces nouveaux usages médicaux dans plusieurs catégories de maladies pour une seule espèce. Sur le plan national, nous citons quelques exemples ci-dessous :

La présente étude indique que :

- *Anthemis nobilis* L. a été utilisé dans le traitement des maladies cardiovasculaires, les maladies respiratoires, les maladies du système immunitaire et plus, par ailleurs elle est utilisée comme anti inflammatoire et sédative et dans le traitement de l'eczéma, selon Boudjelal *et al.* (2013).

Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

---

- *Rhamnus alaternus* L. subsp. *alaternus* utilisé pour les troubles du système nerveux, l'hypoglycémie, les troubles du comportement, le cholestérol et le cancer, ce pendant Boudjelal *et al.* (2013) et Benarba *et al.* (2015) ont indiqués son usage dans le traitement des maladies hépatiques et de l'anémie, respectivement.

Sur le plan méditerranéen, nous citons les résultats suivants :

- *Syzygium aromaticum* L. (L.).Merr. et L.M. Perry (utilisées pour le traitement des maladies du système urinaire, tranquillisants, traitement des maladies du système respiratoire, l'hypoglycémie et autres) est utilisé comme aphrodisiaque et pour la mauvaise haleine selon Merzouki *et al.* (2000) et Güzel *et al.* (2015), respectivement.

- *Pinus sylvestris* L. (utilisée pour la prévention du cancer, traitement des maladies du système urinaire, les douleurs articulaires, et autres) a été indiquée pour être utilisée comme antitussif et anticoquelucheux par Güzel *et al.* (2015).

- *Ruta graveolens* L (utilisée dans le traitement du rhumatisme, comme diurétique, traitement des maladies du système nerveux, les douleurs de menstruations, les douleurs d'oreille, les maladies cardiovasculaires, les troubles métaboliques, et autres), a été signalée comme étant utilisée contre les vers intestinaux et les maladies de l'appareil digestif et respiratoire par Tuttolomondo *et al.* (2014b) et Gonzalez-Tejero *et al.* (2008), respectivement.

- En plus d'*Artemisia herbaalba* Asso. utilisée pour le traitement des maladies du système respiratoire et le cancer et *Citrullus colocynthis* (L.) pour le traitement des maladies du système urinaire, dont les usages médicaux, sont nouveaux en Algérie et dans le monde, par comparaison aux usages mentionnés par Merzouki *et al.*(2000), Said *et al.* (2002), Gonzalez-Tejero *et al.* (2008), Boudjelal *et al.* (2013), et Fakchich et Elachouri(2014). Ces comparaisons avec d'autres études ethnobotaniques réalisées dans les régions voisines et méditerranéennes, ont montré que de nouvelles utilisations thérapeutiques ont été signalées dans la présente enquête, il serait donc intéressant de procéder à des essais cliniques pour les étudier.

Certaines de ces nouvelles plantes médicinales attirent notre attention car leurs utilisations médicinales sont en concordance avec les travaux de recherche scientifique, les autres doivent faire l'objet d'une étude pharmacologique pour prouver leur efficacité et leur sécurité cliniques.

Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

---

Deux des plantes signalées comme nouvellement citées au niveau national et dans différentes régions du monde, ont été étudiées en l'occurrence :

- *Spergularia rubra* (L.) J.Presl et C.Presl. avec un FL de 88,83% et une UV de 1,029 utilisée pour le traitement des maladies du système urinaire, gynécologique et reproductif. Son utilisation traditionnelle est en corrélation avec des études chimiques et pharmacologiques, notamment pour les maladies diurétiques, elle possède également des propriétés hypoglycémiantes, anti-hypertensive, hypocholestérolémiantes chez de nombreuses espèces du genre *Spergularia* (DeTommasi *et al.*, 1998 ; Jouad *et al.*, 2003).

- Une autre nouvelle plante intéressante au niveau international : *Zygophyllum cornutum* Coss, une espèce endémique, avec une UV de 0,650 et un FL de 65%, c'est la plante la plus fréquemment citée pour traiter les maladies du système métabolique, ce qui pourrait être très intéressant pour des études phytochimiques et cliniques ultérieures, comme celle de *Zygophyllum gaetulum*, dont l'étude scientifique soutient son utilité clinique potentielle dans le traitement du diabète sucré (Jaouhari *et al.* 1999).

En ce qui concerne les indices quantitatifs, au niveau national nous avons observé deux espèces intéressantes à indice UV élevé :

*Mentha x piperita* L (1,500) et *Mentha viridis* (L) L. (1,410), deux plantes riches en sesquiterpènes réputés pour leur action antiseptique, analgésiques et diurétiques, ainsi que pour leurs effets stimulant sur la digestion et tranquillisant (Bruneton, 1999), pour la première plante, les feuilles sont utilisées en infusion et en décoction, notamment pour les troubles digestifs et les troubles du sommeil, la seconde plante est préparée de la même manière que la précédente et est utilisée comme tranquillisant, analgésique, antiseptique et diurétique,

Au niveau international, on peut citer les exemples suivants :

- *Rheum palmatum* L. avec une UV de 1,350 et *Crataegus oxyacantha* L. avec une UV de 1,300 et un FL de 86,66 % sont utilisées pour le traitement des maladies cardiovasculaires.

- *Spergularia rubra* (L.) J. Presl et C. Presl avec une UV de 1,090 et un FL de 88,23% est utilisée pour traiter les maladies du système urinaire.

- *Crataegus azarolus* L. a une UV de 1,032.

**Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila**

---

Au niveau national, nous avons noté l'activité hypocholestérolémiante des feuilles d'olivier en tant que nouvelle utilisation médicinale ce qui est enregistré pour la première fois en Algérie. En outre, on note de nouvelles plantes qui avaient habituellement un usage culinaire en Algérie, telles que *Laurus nobilis* L., *Coriandrum sativum* L., *Mentha x piperita* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Nigella damascenna* L., *Mentha viridis* (L.) L., et *Origanum vulgare* L. qui sont rapportés pour la première fois comme ayant des usages thérapeutiques, en comparaison avec les résultats de plusieurs enquêtes internationales, ce qui confirme la richesse des connaissances ethnomédicinales des herboristes dans la région.

Quelques espèces que nous avons considérées comme toxiques ont été mentionnées par les herboristes. Malgré leur toxicité, ces plantes contiennent des substances actives responsables de l'effet thérapeutique, mais à des doses faibles (Blackwell, 1990), en général, les espèces considérées comme toxiques sont utilisées en usage externe. Par conséquent, la vente de cette catégorie de plantes devrait être contrôlée par les autorisations sanitaires ; c'est le rôle de la phytovigilance à l'instar de la pharmacovigilance définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant la science ou la pratique d'activités de la détection, de l'évaluation, de la compréhension et la prévention des risques des effets indésirables (ou d'autres problèmes) liés aux médicaments commercialisés. Par conséquent la phytovigilance est essentielle pour collecter des informations fiables sur la sécurité des plantes médicinales afin de développer des guidelines appropriées pour une utilisation sûre et efficace (Shaw *et al.*, 2012).

**VII- Analyse quantitatives des données ethnomédicinales**

**VII-1- Facteur de Consensus Informateur (ICF)**

Le facteur de consensus informateur a été calculé pour chaque catégorie de maladie (Tableau 6). L'ICF le plus élevé était observé pour les maladies du système gastro-intestinal (0,87) avec 73 espèces et 594 usages médicinaux suivi par les maladies du système nerveux (0,86). Un ICF élevé indique une homogénéité élevée de savoir entre les informateurs. Concernant l'ICF le plus élevé pour les maladies du système gastro-intestinal, les mêmes résultats ont été trouvés à Mascara (Benarba *et al.*, 2015), au Pakistan (Ghulam *et al.*, 2015), au Maroc (Fakchich et Elachouri, 2014) et en Italie (Tottolomondo *et al.*, 2014a, 2014b).

## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

l'ICF le plus élevé pour les maladies du système gastro-intestinal dans ces régions pourrait être expliqué par la mauvaise hygiène de vie, en plus les signes cliniques de ces maladies sont facilement identifiés par les herboristes (Punnam Chander *et al.*, 2014) qui se concentrent sur le maintien du système gastro-intestinal, dont le dysfonctionnement est à l'origine de la plus part des maladies chroniques et dégénératives. L'ICF le plus faible a été observé pour les maladies de la cavité orale (0,39), les cancers (0,29) et les maladies du système immunitaire (0,27).

**Tableau 6.** Catégories des maladies traitées par les plantes médicinales les plus largement utilisées avec le facteur de consensus informateur

N.	Catégories	Nombre de taxons	Nombre d'usage	Facteur de Consensus Informateur	Incidence (%)	
				(ICF)		
		(Nt)	(Nur)			
1	Maladies dermatologiques		39	153	0,75	9
2	Maladies du système gastro-intestinal		73	594	0,87	16
3	Maladies du système urinaire et appareil reproductif masculin		67	242	0,73	14
4	Maladies du système respiratoire		51	170	0,7	13
5	Maladies cardiovasculaires		35	115	0,7	8
6	Maladies métaboliques		35	120	0,71	8
7	Infections oculaires		6	12	0,54	2
8	Maladies articulaires		34	108	0,69	9
9	Tumeurs ou cancer	11		15	0,29	2
10	Inflammations		14	41	0,68	3
11	Maladies du système immunitaire		9	12	0,27	2
12	Maladies du système nerveux		33	229	0,86	8
13	Maladies de la sphère orale		15	24	0,39	3
14	Santé générale		45	275	0,84	10

### VII-2- Fréquence Relative (RFC)

La fréquence relative a été calculée pour les plantes les plus citées, les valeurs varient entre 0,32 et 0,91 (Tableau 8).

Les valeurs les plus élevées de la fréquence relative (RFC) ont été trouvées pour *Origanum glandulosum* Desf. (0,91), *Rosmarinus officinalis* L. (0,78), *Artemisia herba alba* Asso. (0,75), *Trigonella foenum-graecum* L. (0,72), *Punica granatum* L. (0,69), *Anthemis nobilis* L. (0,66), *Ocimum basilicum* L. (0,66), *Myrtus communis* L. (0,66), *Salvia officinalis* L., *Nigella damascena* L. (0,62), ces plantes ont été citées par 40 informateurs parmi 79, elles représentent les plantes les plus communes et les plus sollicitées par la population de Constantine et Mila.

### VII-3- Niveau de Fidélité (FL)

Le FL a été calculé pour les 50 plantes les plus citées. On a considéré les plantes ayant un FL entre 50 et 100 % comme les plus importantes et qui sont à 42 plantes (Tableau 7). Parmi les catégories de maladies traitées, quatre catégories avaient un FL < 50%.

Le niveau de fidélité (FL) le plus élevé était observé pour *Tilia cordata* Mill. (100%) utilisée dans le traitement des maladies du système nerveux contrairement à d'autres études ou de nombreuses plantes avec FL de 100% ont été mentionnées (Tahira *et al.*, 2015; Benarba *et al.*, 2015; Ghulam *et al.*, 2015), la même plante a été indiquée pour le traitement de la même catégorie de maladie dans d'autres régions méditerranéennes (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008).

*Artemisia herba alba* Asso. et *Punica granatum* L. utilisées pour le traitement des maladies du système gastro-intestinal avec des FL de 95,74% et 93,09% respectivement, cependant le FL de cette dernière dans la même catégorie était plus faible dans l'enquête de Mascara (Benarba *et al.*, 2015), elle a été également indiquée dans le traitement de la même catégorie en Algérie et en Albanie. *Eucalyptus globulus* Labill. utilisée pour les maladies respiratoires avec un FL de 93,93%, la même plante dans la même catégorie a eu un taux de 100% dans l'enquête de Mascara (Benarba *et al.*, 2015) elle a également la même utilisation en Albanie (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008), enfin Aloe sp. Avec un FL de 96,67% pour le traitement des maladies dermatologiques. Quatre catégories de maladies, chacune contenant une seule espèce avec un FL de 50% ou plus, sont observées : *Tilia cordata* Mill. avec un FL de 100%

## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

pour le traitement des maladies du système nerveux suivie par *Crataegus oxyacantha* L. avec un FL de 86,66% pour les maladies cardiovasculaires, *Thapsia garganica* L. 58,62% pour le traitement des maladies du système articulaire et *Crocus sativus* avec FL de 51,85 % pour les maladies du système immunitaire. Cet indice quantitatif nous permet d'avoir une idée sur l'efficacité de la plante contre une maladie précise.

**Tableau 7.** Niveau de fidélité des plantes les plus citées

les différentes catégories de maladies	Plantes	FL (%)
Maladies du système gastro-intestinal	<i>Origanum glandulosum</i>	73,68
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	71,43
	<i>Artemisia herba alba</i>	95,74
	<i>Punica granatum</i>	93,09
	<i>Anthemis nobilis</i>	51,22
	<i>Myrtus communis</i>	80,49
	<i>Laurus nobilis</i>	54,54
	<i>Mentha pulegium</i>	57,57
	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	81,25
	<i>Ceratonia siliqua</i>	81,25
	<i>Erythraeae centaurium</i>	68,75
	<i>Origanum majorana</i>	51,61
	<i>Ajuga iva</i>	50
	<i>Anethum graveolens</i>	92
	<i>Ecballium elaterium</i>	62,50
	<i>Cupressus sempervirens</i>	52,38
<i>Mentha x pulegium</i>	75	
<i>Ruta montana</i>	50	
Maladies du système respiratoire	<i>Eucalyptus globules</i>	93,93
	<i>Anacyclus pyrethrum</i>	62,50
	<i>Cupressus sempervirens</i>	57,14
Maladies articulaires	<i>Thapsia garganica</i>	58,62
Maladies du système urinaire et reproductif masculin	<i>Parietaria officinalis</i>	83,33
	<i>Arenaria rubra</i>	88,23
	<i>Hordeum vulgare</i>	74,19
Maladies cardiovasculaires	<i>Crataegus oxyacantha</i>	86,66
Maladies métaboliques	<i>Erythraeae centaurium</i>	65,62
	<i>Ajuga iva</i>	78,57
	<i>Zygophyllum cornotum</i>	65
Maladies du système nerveux	<i>Tilia cordata</i>	100
Maladies du système immunitaire	<i>Crocus officinalis</i>	51,85
Maladies gynécologiques	<i>Origanum majorana</i>	70,97
Maladies dermatologique	<i>Lawsonia inermis</i>	50
	<i>Aloe sp</i>	96,67
	<i>Ricinus communis</i>	76,66
Santé générale	<i>Trigonella</i>	66,66
	<i>foenumgraecum</i>	52,50
	<i>Salvia officinalis</i>	53,85
	<i>Mentha viridis</i>	51,43
	<i>Lavandula officinalis</i>	60,60
	<i>Eucalyptus globules</i>	50
	<i>Ceratonia siliqua</i>	57,14
	<i>Peganum harmala</i>	57,14
<i>Marrubium vulgare</i>		



## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

### VII-3- Valeur d'usage (UV)

Les valeurs d'usages étaient comprises entre 0,115-2,280 (Tableau 8). Cette valeur nous permet de connaître la plante la plus citée par les informateurs.

La valeur d'usage (UV) la plus élevée a été trouvée pour *Origanum glandulosum* Desf. (2.280), *Anthemis nobilis* L. (2.244), *Lavandula officinalis* L.(2.143) et *Rosmarinus officinalis* L. (2.040), tandis que les valeurs les plus faibles ont été observées pour *Eucalyptus globulus* L. et *Laurus nobilis* L. (0.115), ce qui pourrait signifier que les connaissances des informateurs sur ces plantes sont limitées ou bien qu'ils ont mentionné uniquement les usages les plus connus et les plus efficaces.

**Tableau 8.** Liste des plantes médicinales les plus citées et les plus utilisées par les informateurs avec la valeur d'usage (UV)

Taxon	Famille	Nb d'interviews dans lesquelles elle a été citée	FC (%)	RFC	Valeur d'usage (UV)
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	Lamiaceae	57	72,15	0,91	2,280
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	49	62,02	0,78	2,040
<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Asteraceae	47	59,49	0,75	1,765
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Fabaceae	45	56,96	0,72	1,933
<i>Punica granatum</i> L.	Lythraceae	43	54,43	0,69	1,325
<i>Anthemis nobilis</i> L.	Asteraceae	41	51,90	0,66	2,244
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	41	51,90	0,66	1,439
<i>Myrtus communis</i> L.	Myrtaceae	41	51,90	0,66	1,586
<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiaceae	40	50,63	0,64	1,875
<i>Nigella damascena</i> L.	Ranunculaceae	40	50,63	0,64	1,350
<i>Mentha viridis</i> (L.) L.	Lamiaceae	39	49,37	0,62	1,410
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Lythraceae	36	45,57	0,58	1,139
<i>Parietaria officinalis</i> L.	Urticaceae	36	45,57	0,58	0,888
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Anacardiaceae	36	45,57	0,58	1,083
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	36	45,57	0,58	1,389
<i>Lavandula officinalis</i> L.	Lamiaceae	35	44,30	0,56	2,143
<i>Lepidium sativum</i> L.	Apiaceae	34	43,04	0,54	1,794
<i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Brassicaceae	34	43,04	0,54	1,264

## Chapitre 1 : Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila

Tableau 8. Liste des plantes médicinales les plus citées et les plus utilisées par les informateurs avec la valeur d'usage (UV) (suite)

Taxon	Famille	Nb d'interviews dans lesquelles elle a été citée	FC (%)	RFC	Valeur d'usage (UV)
<i>Spergularia rubra</i> (L.) J. Presl & C. Presl.	Caryophyllaceae	34	43,04	0,54	1,029
<i>Mentha pulegium</i> L.	Lamiaceae	33	41,77	0,53	1,303
<i>Laurus nobilis</i> L.	Lauraceae	33	41,77	0,53	0,115
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Myrtaceae	33	41,77	0,53	0,115
<i>Ruta graveolens</i> L.	Rutaceae	33	41,77	0,53	1,212
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Fabaceae	32	40,51	0,51	1,687
<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Fabaceae	32	40,51	0,51	1,062
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	Gentianaceae	32	40,51	0,51	1,219
<i>Origanum majorana</i> L.	Lamiaceae	31	39,24	0,50	1,903
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Poaceae	31	39,24	0,50	1,194
<i>Crataegus azarolus</i> L.	Rosaceae	31	39,24	0,50	1,032
<i>Crataegus oxyacantha</i> L.	Rosaceae	30	37,97	0,48	1,300
<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	30	37,97	0,48	1,600
<i>Aloe sp.</i> L.	Aloaceae	30	37,97	0,48	1,333
<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	30	37,97	0,48	1,567
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter	Asteraceae	29	36,71	0,46	1,276
<i>Thapsia garganica</i> L.	Apiaceae	29	36,71	0,46	0,828
<i>Peganum harmala</i> L.	Zygophyllaceae	28	35,44	0,45	1,357
<i>Ajuga iva</i> L. Schreb	Lamiaceae	28	35,44	0,45	1,393
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Lamiaceae	28	35,44	0,45	1,179
<i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	27	34,18	0,43	1,286
<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) Lag.	Asteraceae	26	32,91	0,42	0,846
<i>Globularia alypum</i> L.	Globulariaceae	26	32,91	0,42	0,654
<i>Anethum graveolens</i> L.	Apiaceae	25	31,64	0,40	1,360
<i>Capparis spinosa</i> (L.) A. Rich.	Capparaceae	25	31,64	0,40	0,760
<i>Ecballium elaterium</i> L.	Cucurbitaceae	24	30,38	0,38	1
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Cupressaceae	21	26,58	0,33	1,143
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Hyppocastanaceae	20	25,31	0,32	1,750
<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae	20	25,31	0,32	1,500
<i>Ruta montana</i> L.	Rutaceae	20	25,31	0,32	0,800
<i>Tilia cordata</i> Mill.	Tiliaceae	20	25,31	0,32	1,400
<i>Zygophyllum cornotum</i> Coss.	Zygophyllaceae	20	25,31	0,32	0,650

## **Chapitre 2 :**

**Profil phytochimique, activités  
antioxydante, antibactérienne et anti-  
cholinestérase de la plante *Bellevalia  
mauritanica* Pomel**

**Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

---

Le règne végétal pourrait être considéré comme une source riche des plus diverses structures (exemple il y a plus de 12,000 alcaloïdes connus, plus de 8,000 composés phénoliques et plus de 25,000 différents terpenoïdes), dont beaucoup ont été prouvés à posséder de puissantes propriétés pharmacologiques, y compris les propriétés anti microbiennes (thymol, eurybiol, etc...). Dans de nombreux cas, les métabolites secondaires des plantes peuvent être facilement isolés de la matrice végétale, non plus à l'état pur ou sous forme de mélanges de composés chimiquement reliés. Ce qui est aussi important, c'est que le développement de la résistance bactérienne aux produits naturels des plantes (qui sont généralement considérés comme produits respectueux de l'environnement), a été ainsi de loin documenté dans un nombre limité de cas (exemple pour la réserpine) (Radulovic *et al.*, 2013).

En outre, les radicaux libres résultant des réactions métaboliques chez les organismes aérobiques et provenant aussi de facteurs environnementaux, à des concentrations élevées ils deviennent nocifs et endommagent plusieurs constituants cellulaires comme l'ADN, les lipides et les protéines (Birben *et al.*, 2012). Les antioxydants synthétiques provoquent de graves maladies à cause de leurs propriétés irritantes surtout pour le tractus gastro-intestinal (Grice, 1988 ; Watkins *et al.*, 2016). Enfin, la démence sénile y compris la maladie d'Alzheimer constitue un problème majeur de santé publique, ces maladies posent non seulement un problème sociologique, mais aussi elles posent un problème économique énorme.

Selon l'OMS elle touche 50 millions de personnes à travers le monde, en effet le coût sociétal total de la démence dans le monde, a été estimé à 818 milliards de dollars (US). Les anti-Alzheimers synthétiques étant hépatotoxiques, ceux naturels ont suscité beaucoup d'intérêt tels que la galantamine, la galamine ou l'(-)-huperzine A (Colletier, 2006).

Dans ce contexte nous avons choisi la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel : Endémique Nord-Africaine afin de chercher de nouveaux agents antioxydants, antibactériens et anti-Alzheimer avec un screening par HPLC-MS-IT-TOF et une identification de certains phytoconstituants par LC-MS/MS, dont la majorité sont des acides phénoliques, d'autant plus que la présente étude est réalisée pour la première fois sur cette espèce.

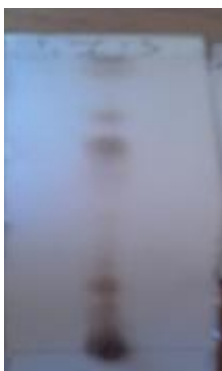
Les résultats de ce chapitre ont été publiés sous forme d'un article scientifique intitulé : chemical profiling and *in vitro* antioxidant, antibacterial and anticholinesterase activities of an endemic North African species *Bellevalia mauritanica* Pomel, dans la revue Acta Scientifica Naturalis.

## I- Screening préliminaire sur plaque CCM

Dans le but de mettre en évidence les principales familles de métabolites secondaires que renferme la plante endémique Nord-Africaine *Bellevalia mauritanica* Pomel, nous avons réalisé un screening préliminaire sur plaque CCM des saponines, triterpènes, coumarines, quinones libres, anthrones, anthranols et dérivés anthracéniques et tanins sur les différents extraits en l'occurrence : EBPA, EBBR et ses phases (CHCl<sub>3</sub>, AcOEt et BuOH).

### I-1- La mise en évidence des saponines

L'apparition de taches noires sur plaque CCM en visible, après révélation par une solution d'acide sulfurique/éthanol (10:90) indique la présence de saponines.



**Figure22.**CCM de l'extrait acétate d'éthyle dans un système d'élution Hexane/acétate d'éthyle après révélation par une solution d'acide sulfurique/éthanol (10:90)



**Figure23.**CCM de l'extrait chloroformique dans un système d'élution Hexane/acétate d'éthyle/MeOH après révélation par une solution d'acide sulfurique/éthanol (10:90).

**I-2- La mise en évidence des triterpènes**

L'apparition de taches violettes sur plaque CCM en visible, après révélation par une solution d'Anis Aldéhyde indique la présence de triterpènes.



**Figure 24.** CCM des extraits acétate d'éthyle et Chloroformique dans un système d'élution Hex/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH et Hex/AcOEt respectivement après révélation par une solution d'Anis Aldéhyde.

**I-3- La mise en évidence des anthrones et anthranols, quinones libres, dérivés anthracéniques et coumarines**

L'apparition de taches jaune fluorescent sous UV après pulvérisation des plaques CCM par une solution de KOH (5%) et chauffage indique la présence d'anthrones et anthranols.



**Figure 25.** CCM des extraits brut de la partie aérienne, brut de la partie souterraine et ses phases CHCl<sub>3</sub>, AcOEt, et BuOH sous UV 365 nm dans un système d'élution (CHCl<sub>3</sub>/ MeOH/H<sub>2</sub>O).

D'après le screening préliminaire des différents extraits de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel (Tableau 6), la partie aérienne (EBPA) contient les anthrones et les anthranols, la partie souterraine contient les triterpènes qui se concentrent dans les phases CHCl<sub>3</sub> et AcOEt, les saponines qui se concentrent beaucoup plus dans la phase CHCl<sub>3</sub>, les quinones libres présents

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

uniquement dans la phase BuOH et les anthrones et les anthranols qui se concentrent le plus dans la phase AcOEt, avec l'absence des tanins, coumarines et dérivés anthracéniques.

**Tableau9.** Résultats du screening phytochimique des différents extraits de *Bellevalia mauritanica* Pomel

	EBPA	EBBR	CHCl <sub>3</sub>	AcOEt	BuOH
Triterpènes	-	+	++	++	-
Saponines	-	+	+++	++	-
Tanins	-	-	-	-	-
Quinones libres	-	+	-	-	+
Coumarines	-	-	-	-	-
Dérivés anthracéniques	-	-	-	-	-
Anthrones et anthranols	+	+	++	+++	+

## II- Contenu phénolique

D'après le dosage des flavonoïdes et polyphénols totaux effectué sur les cinq extraits en l'occurrence : l'extrait brut de la partie aérienne (EBPA), l'extrait brut bulb-racines (EBBR) et ses phases : chloroformiques (CHCl<sub>3</sub>), acétate d'éthyle (AcOEt) et butanolique (BuOH), l'extrait le plus riche était la phase (CHCl<sub>3</sub>) suivi de la phase BuOH et de la phase AcOEt (Tableau10).

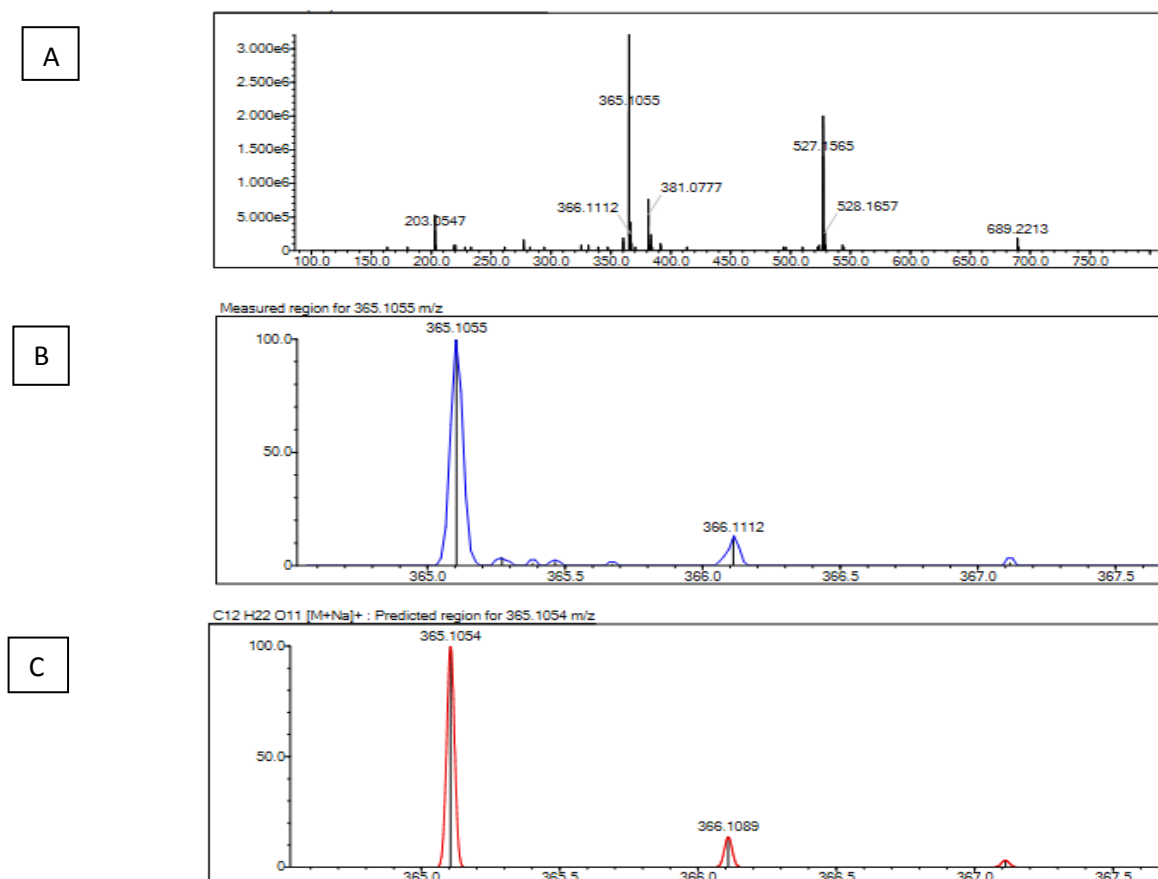
**Tableau10.** Contenu phénolique des extraits de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

Extrait	Polyphénols totaux <sup>[a]</sup> (µg EAG/mg)	Flavonoïdes totaux <sup>[a]</sup> (µg EQ/mg)
EBPA	24,59 ± 0,55	8,15 ± 0,25
EBBR	2,68 ± 0,30	3,01 ± 0,80
CHCl <sub>3</sub>	118,27 ± 1,30	44,75 ± 0,98
BuOH	91,65 ± 0,82	17,05 ± 0,92
EtOAc	65,67 ± 1,10	10,78 ± 0,55

<sup>a</sup> : valeurs exprimées en moyenne ± SD

## III- Résultats HPLC-MS-IT-TOF

L'analyse qualitative par HPLC-MS-IT-TOF est une méthode utile pour le préscreening des métabolites secondaires que renferme une plante donnée, elle nécessite cependant des analyses complémentaires de caractérisation et d'identification de ces composés surtout dans le cas de la plante en considération *Bellevalia mauritanica* Pomel qui fait l'objet de la présente thèse et qui est étudiée pour la première fois. Le profil phytochimique des trois phases  $\text{CHCl}_3$  (Figure 27), BuOH (Figure 28) et EtOAc (Figure 29) par une méthode optimisée (75 min) de LC-MS –IT-TOF, nous a permis de déterminer 91 phytoconstituants présents dans les trois phases (Tableau 11), fournissant comme informations : la formule, le temps de rétention, la forme d'ionisation et le rapport  $m/z$  mesuré et prédit (avec l'erreur), seulement les composés ayant une intensité supérieure à 2500000 ont été retenus, exemple : le composé 1 dans l'extrait  $\text{CHCl}_3$  (Figure 26).



**Figure 26.** Spectre MS et massespécifique exacte du composé 1 dans l'extrait  $\text{CHCl}_3$  (A : spectre MS1 exacte. B et C : spectres des masses exactes mesurée et prédite par HPLC-MS-IT-TOF respectivement).



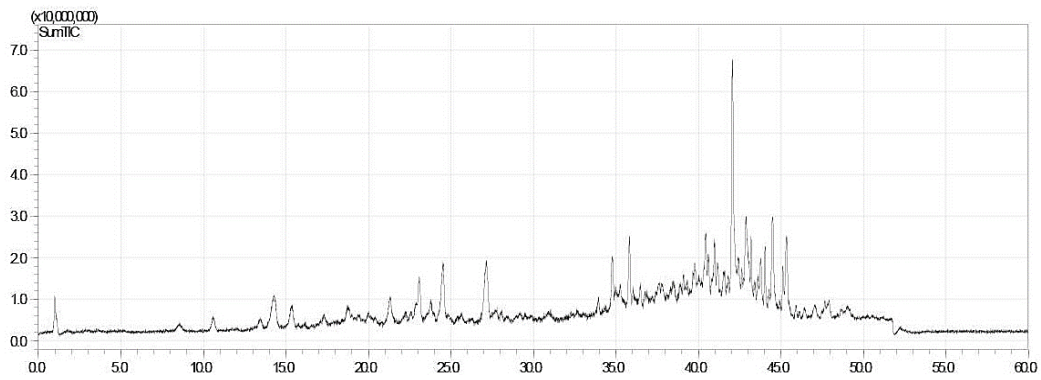


Figure 27. Chromatogramme HPLC- MS IT- TOF de la phase CHCl<sub>3</sub> de la plante *B. mauritanica* Pomel

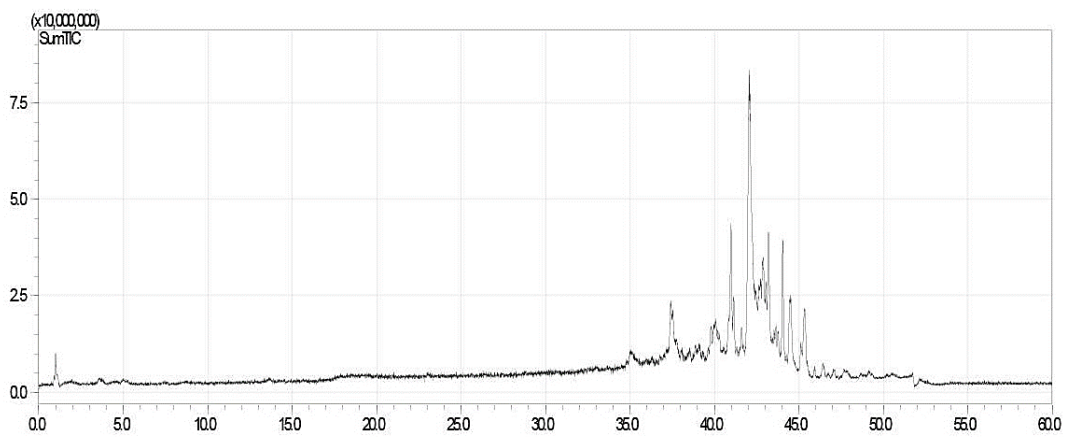


Figure 28. Chromatogramme HPLC- MS IT- TOF de la phase BuOH de la plante *B. mauritanica* Pomel

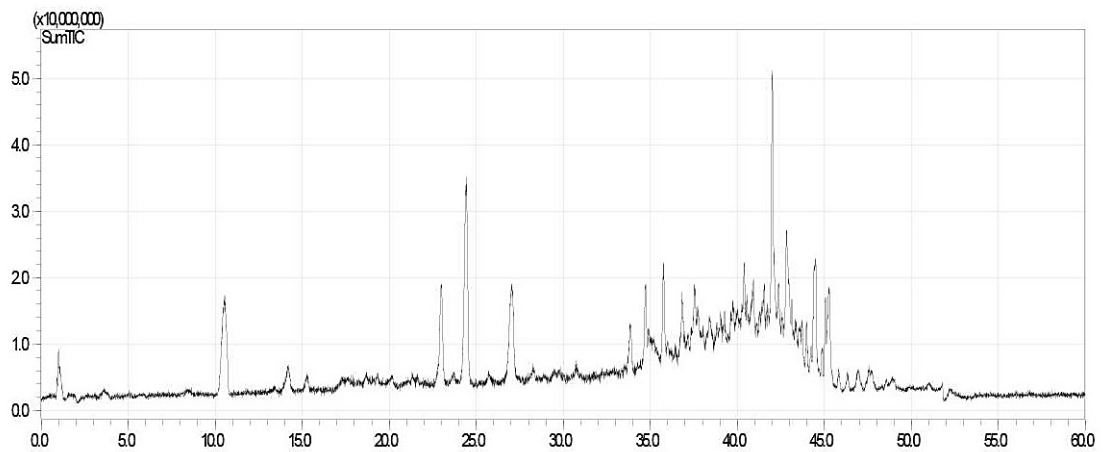
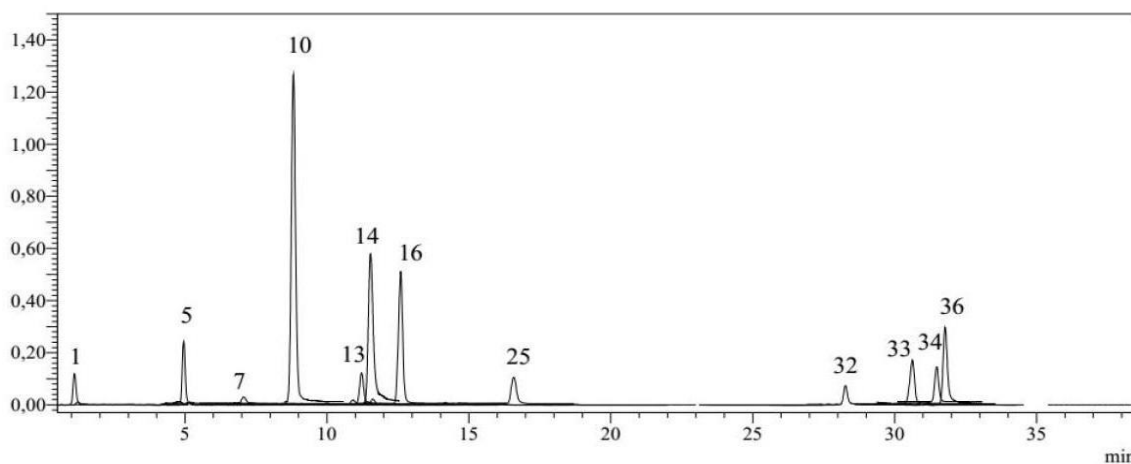


Figure 29. Chromatogramme HPLC- MS IT- TOF de la phase AcOEt de la plante *B. mauritanica* Pomel

## IV- Résultats LC-MS/MS

L'analyse quantitative des trois phases par une méthode validée de LC-MS/MS (Yilmaz *et al.*, 2018), nous a permis d'identifier et de détecter 13 phytoconstituants parmi 37 standards entre flavonoïdes, acides phénoliques et aldéhydes (Figures 30, 31 et 32). Les phases étaient riches en acides phénoliques plutôt qu'en flavonoïdes. La phase AcOEt contient de l'acide caféique (1240,7 µg/g extrait) et la phase CHCl<sub>3</sub> contient de la vanilline (2048,5 µg/g extrait) comme composés majoritaires. La vanilline est utilisée dans l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et la cosmétologie. Il a été rapporté qu'elle présente de nombreuses activités telles que : les activités antimutagène, anti angiogène, anti-colite, contre la drépanocytose et des effets analgésiques (Tai *et al.* 2011). Les phases contiennent aussi des quantités considérables de certains phytoconstituants comme l'acide protocatechuique (274,3 et 145,2 µg/g extrait), l'acide *p*-coumarique (382.8 et 310.9 µg/g extrait), l'acide férulique (361,2 et 969,4 µg/g extrait) et le kaempférol (146,7 et 150,6 µg/g extrait), respectivement et l'acide syringique (138.2 µg/g extrait) dans la phase CHCl<sub>3</sub>. Néanmoins elles contiennent de faibles quantités d'acide salicylique (19,2 and 15,5 µg/g extrait), d'apigétrine (12,1 and 5,3 µg/g extrait) et de lutéoline (9,5 and 42,4 µg/g extrait) respectivement, la phase BuOH était la plus pauvre en ces phytoconstituants (Tableau 12).



**Figure 30.** Chromatogramme LC-MS/MS de la phase AcOEt de la plante *B. mauritanica* Pomel

Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

---

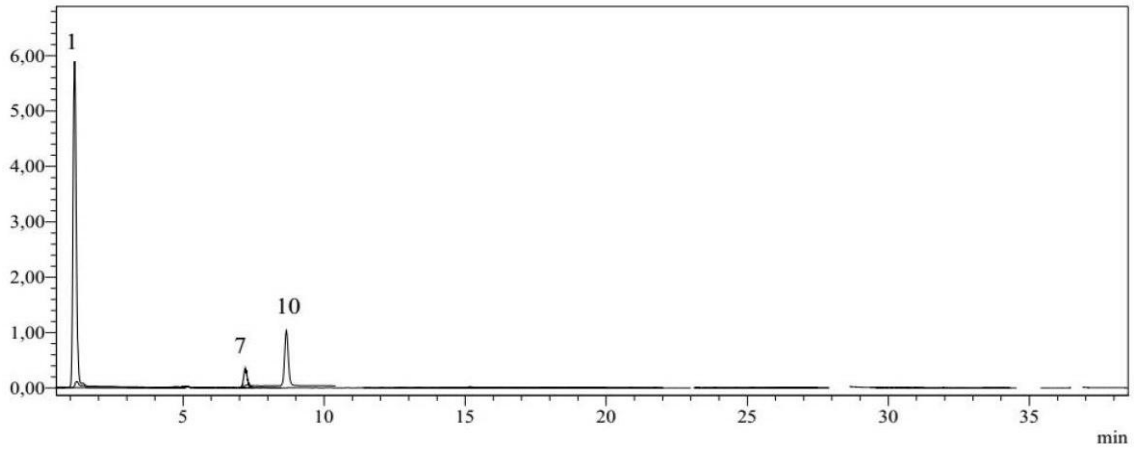


Figure 31. Chromatogramme LC-MS/MS de la phase BuOH de la plante *B. mauritanica* Pomel

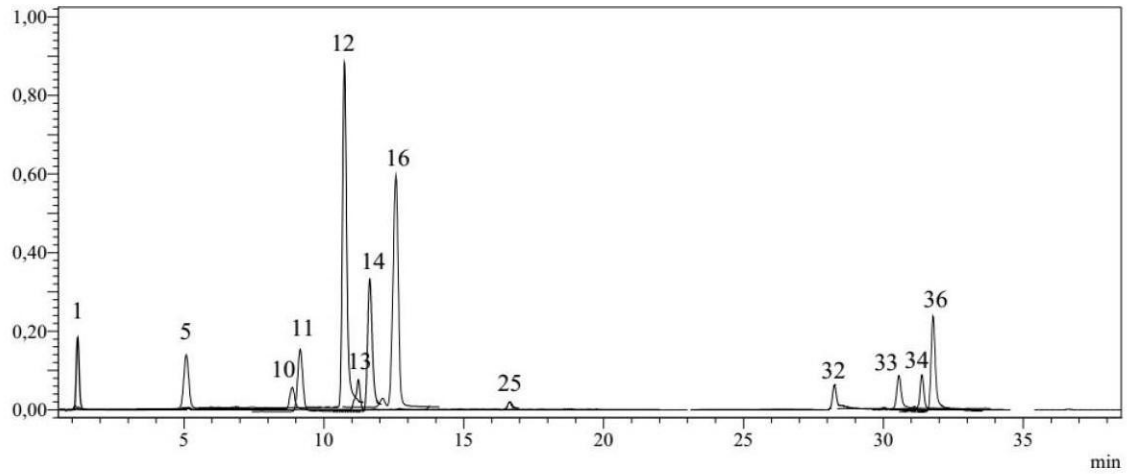


Figure 32. Chromatogramme LC-MS/MS de la phase CHCl<sub>3</sub> de la plante *B. mauritanica* Pomel

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

**Tableau 11.** Screening des phytoconstituants présents dans les extraits de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel par HPLC-IT-TOF-MS

N	Formule	Temps de rétention	m/z mesuré	m/z prédit	Erreur (ppm)	DBE	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH
1	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	0.99	365.1055 [M+Na] <sup>+</sup>	365.1054 [M+Na] <sup>+</sup>	0.27	2.0	*		
2	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	0.99	365.1084 [M+H] <sup>+</sup>	365.1078 [M+H] <sup>+</sup>	1.64	5.0			*
3	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	10.55	423.0902 [M+Na] <sup>+</sup>	423.0898 [M+Na] <sup>+</sup>	0.95	8.0		*	
4	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	10.61	421.0773 [M-H] <sup>-</sup>	421.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-0.3	11.0	*		
5	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	14.17	399.1425 [M+H] <sup>+</sup>	399.1438 [M+H] <sup>+</sup>	-3.26	12.0		*	
6	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub>	14.30	399.1409 [M+Na] <sup>+</sup>	399.1414 [M+Na] <sup>+</sup>	-1.25	9.0	*		
7	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	15.37	399.1427 [M+H] <sup>+</sup>	399.1438 [M+H] <sup>+</sup>	-2.76	12.0	*		
8	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	18.78	429.1528 [M+Na] <sup>+</sup>	429.1520 [M+Na] <sup>+</sup>	1.86	9.0	*		
9	C <sub>27</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	22.59	431.0575 [M+H] <sup>+</sup>	431.0561 [M+H] <sup>+</sup>	3.25	22.0	*		
10	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	22.85	314.1400 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	314.1387 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	4.14	11.0	*		
11	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	22.97	385.0869 [M+Na] <sup>+</sup>	385.0894 [M+Na] <sup>+</sup>	-6.49	10.0		*	
12	C <sub>29</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	23.01	475.0843 [M-H] <sup>-</sup>	475.0823 [M-H] <sup>-</sup>	4.21	22.0		*	
13	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	23.01	363.1066 [M+H] <sup>+</sup>	363.1074 [M+H] <sup>+</sup>	-2.20	10.0		*	
14	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	23.07	385.0911 [M+H] <sup>+</sup>	385.0918 [M+H] <sup>+</sup>	-1.82	13.0	*		
15	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	23.08	475.0853 [M-H] <sup>-</sup>	475.0882 [M-H] <sup>-</sup>	-6.10	13.0	*		
16	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	23.10	363.1083 [M+H] <sup>+</sup>	363.1074 [M+H] <sup>+</sup>	2.48	10.0	*		
17	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	23.80	344.1502 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	344.1492 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.91	11.0	*		
18	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	24.41	377.0890 [M-H] <sup>-</sup>	377.0878 [M-H] <sup>-</sup>	3.18	10.0		*	
19	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	24.41	445.0747 [M-H] <sup>-</sup>	445.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-6.52	13.0		*	
20	C <sub>26</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	24.41	355.0759 [M+H] <sup>+</sup>	355.0754 [M+H] <sup>+</sup>	1.41	22.0		*	
21	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	24.43	333.0963 [M+H] <sup>+</sup>	333.0969 [M+H] <sup>+</sup>	-1.80	10.0		*	
22	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	24.52	445.0745 [M-H] <sup>-</sup>	445.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-6.97	13.0	*		
23	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	24.52	333.0962 [M+H] <sup>+</sup>	333.0969 [M+H] <sup>+</sup>	-2.10	10.0	*	*	
24	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	27.02	348.1162 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	348.1137 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	7.18	2.0	*	*	
25	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.06	369.0930 [M+Na] <sup>+</sup>	369.0945 [M+Na] <sup>+</sup>	-4.06	10.0		*	
26	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.09	369.0946 [M+Na] <sup>+</sup>	369.0945 [M+Na] <sup>+</sup>	0.27	10.0	*		
27	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.13	347.1129 [M+H] <sup>+</sup>	347.1125 [M+H] <sup>+</sup>	1.15	10.0	*	*	
28	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub>	29.15	429.0434 [M-H] <sup>-</sup>	429.0463 [M-H] <sup>-</sup>	-6.76	14.0	*		
29	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	33.85	361.1283 [M+H] <sup>+</sup>	361.1282 [M+H] <sup>+</sup>	0.28	10.0	*	*	
30	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	34.77	351.2139 [M+Na] <sup>+</sup>	351.2142 [M+Na] <sup>+</sup>	-0.85	3.0	*	*	
31	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	35.73	353.2296 [M+Na] <sup>+</sup>	353.2298 [M+Na] <sup>+</sup>	-0.57	2.0		*	
32	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	35.81	213.1486 [M+H] <sup>+</sup>	213.1485 [M+H] <sup>+</sup>	0.47	3.0	*		
33	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	35.82	348.2747 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	348.2744 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	0.86	2.0	*		
34	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	35.83	353.2312 [M+H] <sup>+</sup>	353.2323 [M+H] <sup>+</sup>	-3.11	5.0	*		
35	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	36.46	299.0909 [M+H] <sup>+</sup>	299.0914 [M+H] <sup>+</sup>	-1.67	11.0	*		
36	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	37.41	274.2738 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	274.2741 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-1.09	1.0	*	*	*
37	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	37.55	318.3002 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.3003 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.31	1.0			*
38	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O	37.55	319.3029 [M+H] <sup>+</sup>	319.2995 [M+H] <sup>+</sup>	10.65	4.0			*
39	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	37.56	227.1636 [M+H] <sup>+</sup>	227.1642 [M+H] <sup>+</sup>	-2.64	3.0		*	
40	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	40.02	296.2595 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	296.2584 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.71	4.0	*	*	
41	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	40.39	277.2152 [M+H] <sup>+</sup>	277.2162 [M+H] <sup>+</sup>	-3.61	5.0		*	
42	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	40.42	384.9350 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-7.79	3.0	*		
43	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	40.42	279.2309 [M+Na] <sup>+</sup>	279.2295 [M+Na] <sup>+</sup>	5.01	1.0	*		
44	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	40.45	295.2269 [M-H] <sup>-</sup>	295.2268 [M-H] <sup>-</sup>	0.34	4.0	*	*	
45	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	40.70	318.3008 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.3003 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.57	1.0		*	
46	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	40.83	298.2738 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	298.2741 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-1.01	3.0			*
47	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	40.84	320.2581 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	320.2584 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.94	6.0			*

DBE: Double Band Efficiency, \*: présence.

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

**Tableau 11.** Screening des phytoconstituants présents dans les extraits de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel par HPLC-IT-TOF-MS (suite)

N	Formule	Temps de rétention	m/z mesuré	m/z prédit	Erreur (ppm)	DBE	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH
48	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	41.03	293.2143 [M+H] <sup>+</sup>	293.2111 [M+H] <sup>+</sup>	10.91	5.0	*		
49	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	41.15	369.2469 [M-H] <sup>-</sup>	369.2435 [M-H] <sup>-</sup>	9.21	8.0			*
50	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	41.20	284.3315 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.3312 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.06	1.0	*		
51	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	41.49	293.2478 [M+H] <sup>+</sup>	293.2475 [M+H] <sup>+</sup>	1.02	4.0		*	
52	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	41.54	309.2417 [M+H] <sup>+</sup>	309.2424 [M+H] <sup>+</sup>	-2.26	4.0	*	*	
53	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub>	41.55	310.2481 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	310.2529 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-15.47	9.0		*	
54	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	41.98	307.2644 [M+H] <sup>+</sup>	307.2632 [M+H] <sup>+</sup>	3.91	4.0	*		
55	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	42.03	323.2579 [M+H] <sup>+</sup>	323.2581 [M+H] <sup>+</sup>	-0.62	4.0		*	
56	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub>	42.05	442.3352 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	442.3374 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-4.97	0.0			*
57	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O	42.08	177.1268 [M+H] <sup>+</sup>	177.1274 [M+H] <sup>+</sup>	-3.39	5.0			*
58	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.37	384.9343 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	5.72	12.0		*	
59	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	42.43	372.3117 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	372.3108 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.42	3.0	*	*	
60	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.43	384.9342 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	5.46	12.0	*		
61	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	42.44	377.2665 [M+Na] <sup>+</sup>	377.2662 [M+Na] <sup>+</sup>	0.80	3.0	*		
62	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O	42.65	278.2434 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	278.2478 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-15.81	5.0			*
63	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	42.73	505.3315 [M-H] <sup>-</sup>	505.3323 [M-H] <sup>-</sup>	-1.58	11.0			*
64	C <sub>43</sub> H <sub>42</sub> O	42.74	619.3224 [M+HCOO] <sup>-</sup>	619.3218 [M+HCOO] <sup>-</sup>	0.97	23.0			*
65	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>14</sub>	42.84	633.3364 [M+HCOO] <sup>-</sup>	633.3339 [M+HCOO] <sup>-</sup>	3.95	1.0			*
66	C <sub>34</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	42.87	519.3461 [M-H] <sup>-</sup>	519.3480 [M-H] <sup>-</sup>	-3.66	11.0			*
67	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.93	384.9349 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	7.27	12.0		*	
68	C <sub>39</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub>	43.05	629.3454 [M-H] <sup>-</sup>	629.3484 [M-H] <sup>-</sup>	-4.77	15.0			*
69	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	43.07	293.2484 [M-H] <sup>-</sup>	293.2475 [M-H] <sup>-</sup>	3.07	4.0		*	
70	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	43.20	515.3519 [M-H] <sup>-</sup>	515.3531 [M-H] <sup>-</sup>	-2.33	12.0	*		
71	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	43.21	459.2901 [M-H] <sup>-</sup>	459.2905 [M-H] <sup>-</sup>	-0.87	12.0	*		
72	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	43.44	384.9355 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-6.49	3.0	*		*
73	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	43.54	531.3480 [M-H] <sup>-</sup>	531.3480 [M-H] <sup>-</sup>	0.00	12.0			*
74	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	43.59	284.2964 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.2948 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	5.63	2.0		*	
75	C <sub>33</sub> H <sub>54</sub> O <sub>8</sub>	43.62	577.3724 [M-H] <sup>-</sup>	577.3746 [M-H] <sup>-</sup>	-3.81	7.0		*	
76	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	43.65	284.2961 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.2948 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	4.57	2.0	*		
77	C <sub>16</sub> H <sub>38</sub> O <sub>9</sub>	43.79	392.2865 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	392.2854 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.80	-2.0	*		
78	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O	44.02	336.3251 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	336.3261 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.87	4.0	*		*
79	C <sub>45</sub> H <sub>44</sub> O	44.05	645.3393 [M+HCOO] <sup>-</sup>	645.3374 [M+HCOO] <sup>-</sup>	2.94	24.0	*		
80	C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>8</sub>	44.30	605.4027 [M-H] <sup>-</sup>	605.4059 [M-H] <sup>-</sup>	-5.29	7.0	*		
81	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O	44.43	360.3228 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	360.3261 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-9.16	6.0		*	
82	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	44.43	384.9347 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	6.75	12.0		*	
83	C <sub>21</sub> H <sub>48</sub> O	44.49	339.3452 [M+Na] <sup>+</sup>	339.3597 [M+Na] <sup>+</sup>	-42.73	-2.0		*	
84	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	44.53	347.2581 [M-H] <sup>-</sup>	347.2592 [M-H] <sup>-</sup>	-3.17	5.0		*	
85	C <sub>22</sub> H <sub>40</sub> O	44.57	338.3428 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	338.3417 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.25	3.0	*		*
86	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	44.86	384.9367 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-3.38	3.0	*	*	
87	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O	45.11	340.3573 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	340.3574 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.29	2.0	*	*	*
88	C <sub>24</sub> H <sub>44</sub> O	45.18	366.3744 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	366.3730 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.82	3.0	*	*	*
89	C <sub>33</sub> H <sub>54</sub> O <sub>5</sub>	45.33	531.4077 [M+H] <sup>+</sup>	531.4044 [M+H] <sup>+</sup>	6.21	7.0	*		*
90	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O	45.93	368.3917 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.3887 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	8.14	2.0			*
91	C <sub>16</sub> H <sub>2</sub> O <sub>12</sub>	45.36	384.9456 [M-H] <sup>-</sup>	384.9473 [M-H] <sup>-</sup>	-4.42	16.0			*



## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

### V- Résultats de l'évaluation de l'activité biologique

#### V-1- L'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par quatre méthodes : piégeage du DPPH<sup>•</sup>, et de l'ABTS<sup>•+</sup>, le test CUPRAC et le superoxyde DMSO alcalin.

**Tableau 13.** Activité Antyoxidante de la plante *B. mauritanica* Pomel par DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, Superoxyde DMSO alcalin et CUPRAC<sup>a</sup>

Extraits	DPPH <sup>•</sup> <sup>[a]</sup>	[IC <sub>50</sub> ] (µg/ml) ABTS <sup>•+</sup> <sup>[a]</sup>	superoxyde DMSO alkaline <sup>[a]</sup>	[A <sub>0.5</sub> ] CUPRAC <sup>[a]</sup>
	APCE	150.17 ± 10.25	95.64 ± 1.92	110.74 ± 7.36
BRCE	281.33 ± 2.35	101.09 ± 3.22	47.08 ± 1.76	231.24 ± 4.35
CHCl <sub>3</sub>	52.53 ± 3.39	40.20 ± 1.75	20.1 ± 1.25	50.24 ± 0.14
BuOH	29.28 ± 2.53	20.85 ± 1.07	10.0 ± 0.08	45.17 ± 0.04
EtOAc	18.92 ± 0.56	5.70 ± 0.07	5.59 ± 0.22	20.16 ± 0.32
BHA <sup>[b]</sup>	6.14 ± 0.41	1.81 ± 0.10	NT	5.35 ± 0.71
BHT <sup>[b]</sup>	12.99 ± 0.41	1.29 ± 0.30	NT	9.62 ± 0.87
α-tocophérol <sup>[b]</sup>	13.02 ± 5.17	NT	1.33 ± 0.04	NT
acide ascorbique <sup>[b]</sup>	NT	NT	0.5 ± 0.004	NT

NT : non testé. <sup>[a]</sup>valeurs exprimées en moyenne±S.D. de trois répétitions parallèles (n=3). <sup>[b]</sup> composés de référence.

En terme de CI<sub>50</sub> (Tableau 13), l'extrait ayant les valeurs les plus faibles c'est-à-dire un pouvoir antiradicalaire important, parmi les extraits testés était la phase AcOEt et ce dans les quatre méthodes, en effet dans le test DPPH<sup>•</sup>, son CI<sub>50</sub> était (CI<sub>50</sub>=18,92 ± 0,56 µg/ml), contre le BHA (CI<sub>50</sub>= 6,14 ± 0,41 µg/ml), le BHT (CI<sub>50</sub> = 12,99 ± 0,41 µg/ml) et l'α-tocophérol (CI<sub>50</sub>= 13,02 ± 5,17 µg/ml) (Figure 33a), pour ce qui est des pourcentages d'inhibition les valeurs les plus élevées étaient observées pour la phase EtOAc suivie de la phase CHCl<sub>3</sub>et la phase BuOH (Figure 33b), néanmoins le pouvoir antiradicalaire (%)des standards était plus important à 200, 400 et 800 µg/ml par rapport aux extraits testés (Figure 33c).

Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

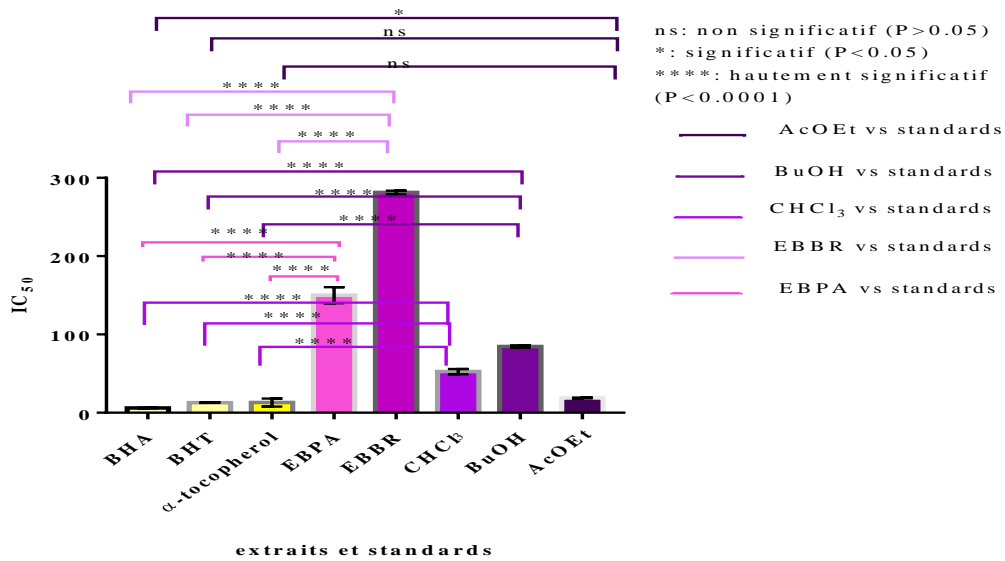


Figure 33a. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des  $\text{CI}_{50}$  des extraits et des standards BHA, BHT et  $\alpha$ -tocophérol dans le test de DPPH•.

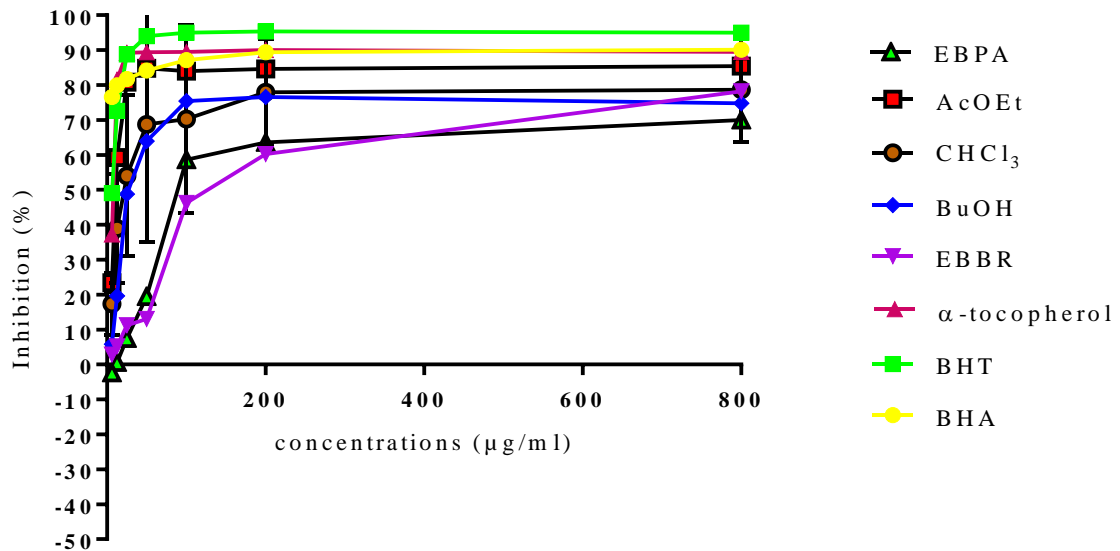
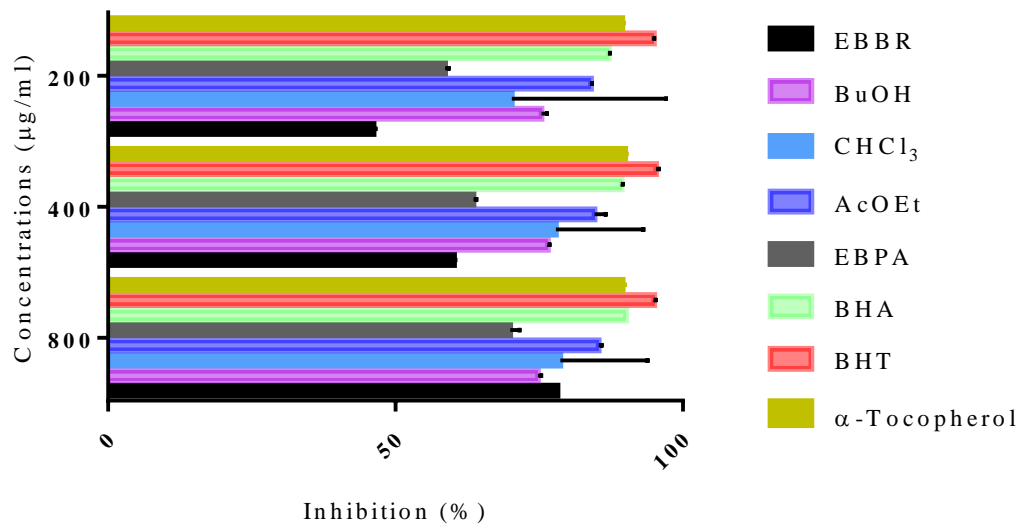


Figure 33b. Activité antiradicalaire des différents extraits de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards dans le test du DPPH•.

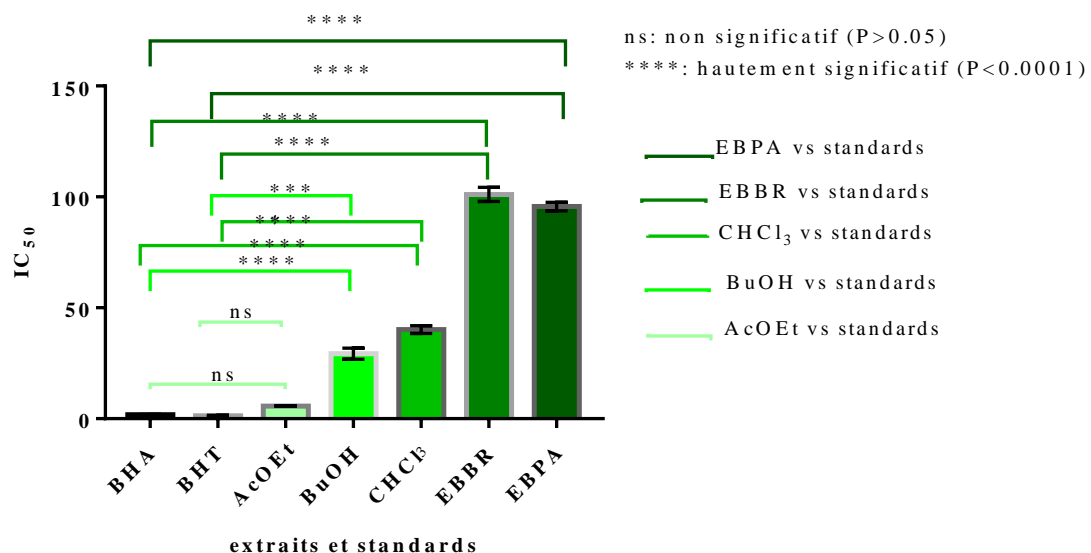


## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel



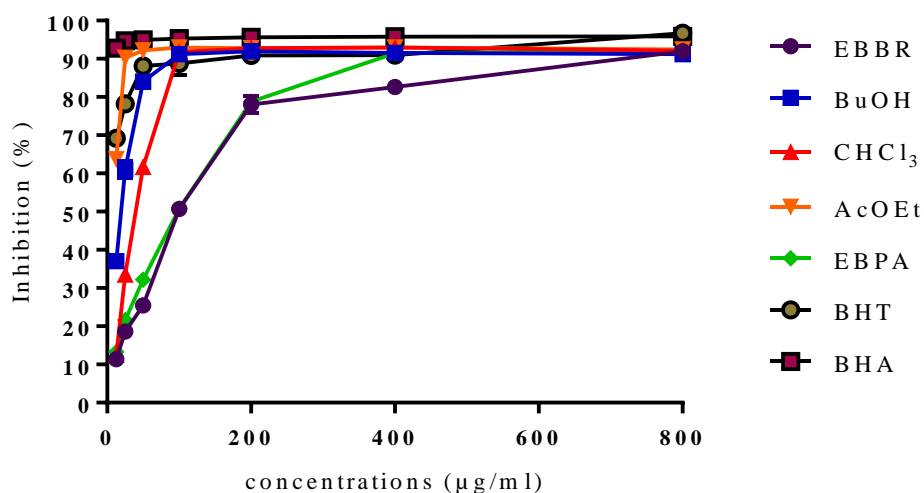
**Figure 33c.** Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards a 200, 400 et 800 µg/ml dans le test du DPPH.

Quant au test ABTS<sup>+</sup>, la phase AcOEt ayant une  $CI_{50} = 5,70 \pm 0,07$  µg/ml contre le BHA ( $CI_{50} = 1,81 \pm 0,10$  µg/ml) et le BHT ( $CI_{50} = 1,29 \pm 0,30$  µg/ml) (Figure 34a) présentait des pourcentages d'inhibition élevés notamment dans la concentration 200 et 400 µg/ml par rapport au BHT, suivie par les phases BuOH et CHCl<sub>3</sub> respectivement (Figures 34b, 34c).

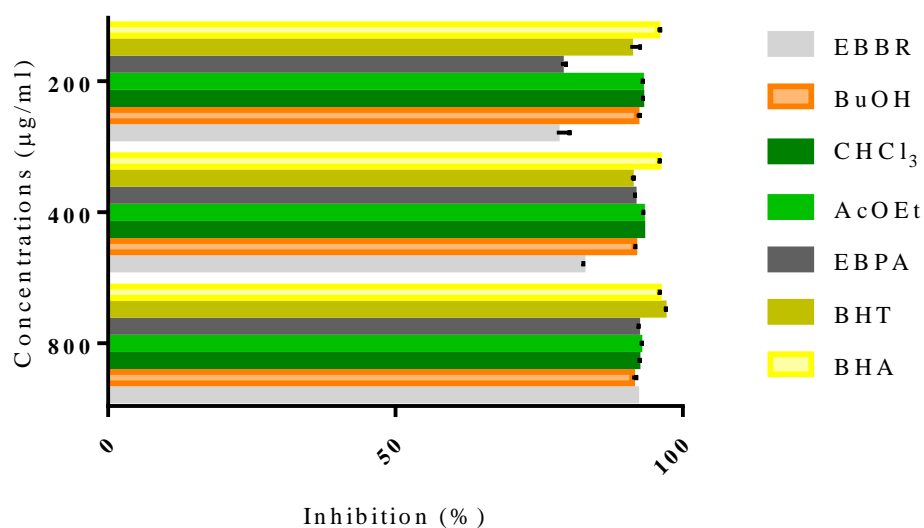


**Figure 34a.** Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des  $CI_{50}$  des extraits et des standards BHA et BHT dans le test ABTS<sup>+</sup>.

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel



**Figure 34b.** Activité antiradicalaire des différents extraits de la plante *B.mauritanica* Pomel et des standards dans le test ABTS<sup>++</sup>.



**Figure 34c.** Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plantes *B. mauritanica* Pomel et des standards a 200, 400 et 800 µg/ml dans le test ABTS<sup>++</sup>.

Concernant le superoxyde DMSO alcalin, la phase AcOEt avec une ( $CI_{50} = 5,70 \pm 0,07$  µg/ml) contre l' $\alpha$ -tocophérol ( $CI_{50} = 1,33 \pm 0,04$  µg/ml) et l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 0,5 \pm 0,004$  µg/ml) (Figure 35a), du point de vue pourcentage d'inhibition l'extrait EBBR et la phase AcOEt étaient capables d'inhiber le radical DMSO alcalin d'une manière considérable

Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

par comparaison aux standards, en elle possédait un pourcentage d'inhibition proche à celui des standards (Figures 35b, 35c).

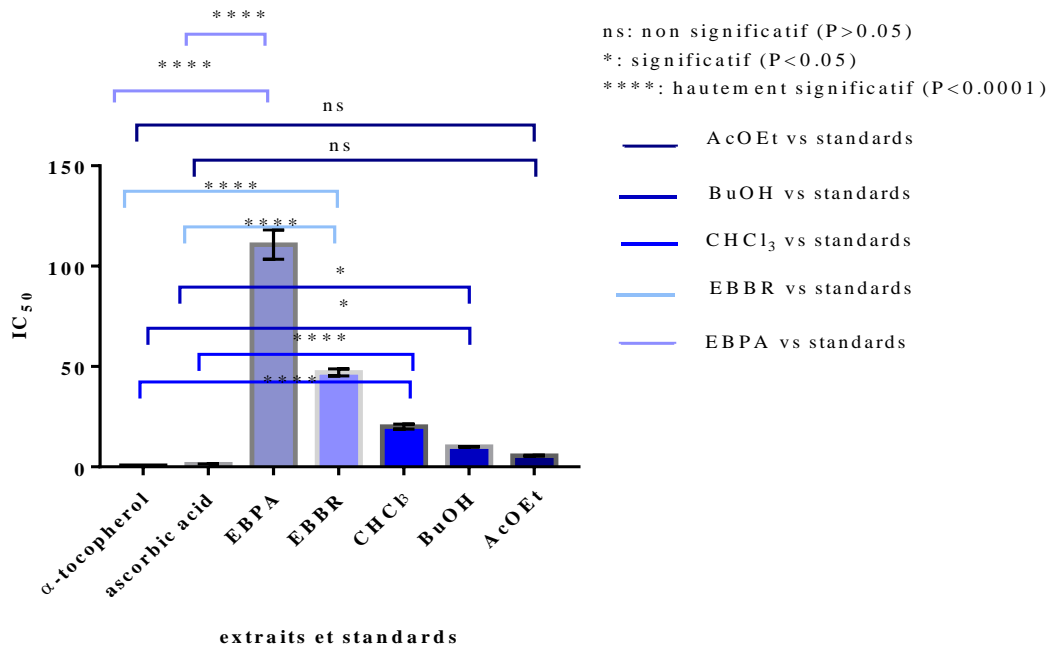


Figure 35a. Analyse de la variance ANOVA des CI<sub>50</sub> des extraits et des standards: acide ascorbique α-tocophérol dans le test du superoxyde DMSO alcalin.

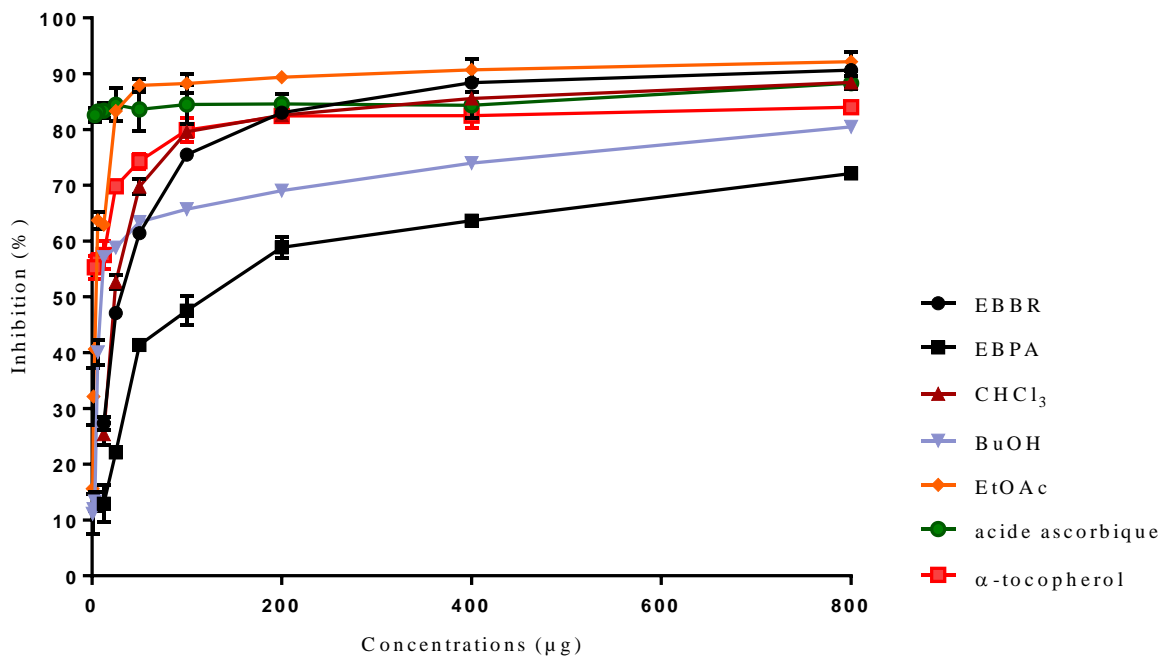
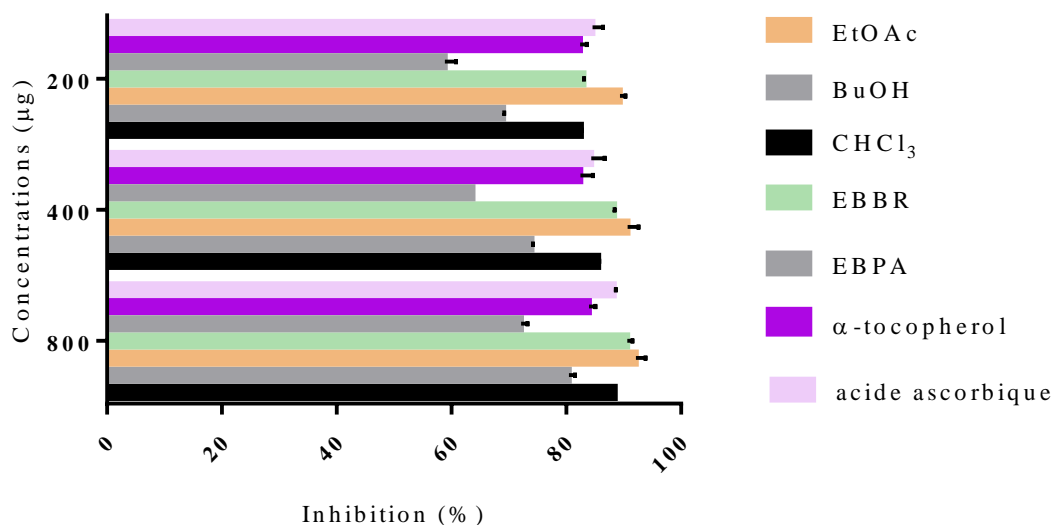


Figure 35b. Activité antiradicalaire des différents extraits de la plantes *B. mauritanica* Pomel et des standards dans le test du DMSO alcalin.



**Figure 35c.** Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards a 200, 400 et 800 µg/ml dans le test du DMSO alcalin.

D'après le test ANOVA dans les trois méthodes à savoir :le DPPH<sup>•</sup> scavenging, l'ABTS<sup>•+</sup> scavenging et le superoxyde DMSO alcalin, la différence entre la CI<sub>50</sub>de la phase AcOEt et celles des standards utilisés comme contrôle positif, était statistiquement non significative.

Tandis que pour le test CUPRAC, la différence entre l' $A_{0,5}$  de la phase AcOEt ( $A_{0,5} = 20,16 \pm 0,32$  µg/ml) et celles des standards utilisés : le BHA ( $A_{0,5}=5,35 \pm 0,71$  µg/ml) et le BHT ( $A_{0,5}=9,62 \pm 0,87$  µg/ml)était significative (Figure 36a), cependant l'absorbance de cette phase était plus élevée par rapport à celle des standards, indiquant ainsi une réduction

Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevia mauritanica* Pomel

considérable du complexe cuivre-néocuprine à différentes concentrations (Figures 36b, 36c).

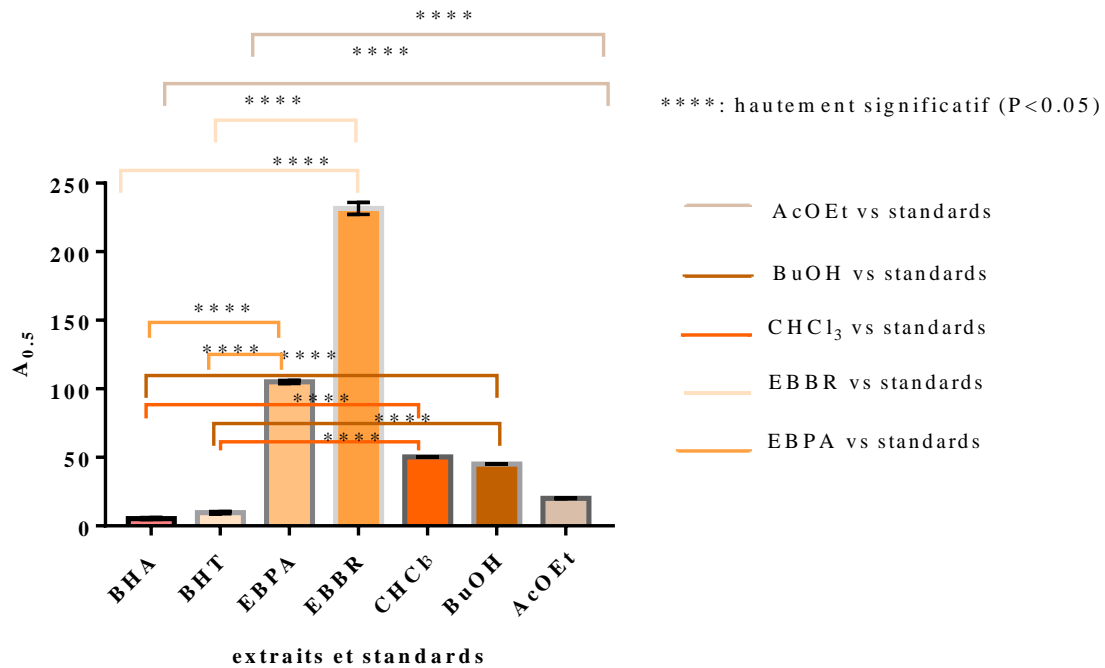


Figure 36a. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des A<sub>0.5</sub> des extraits et des standards BHA et BHT dans le test CUPRAC.

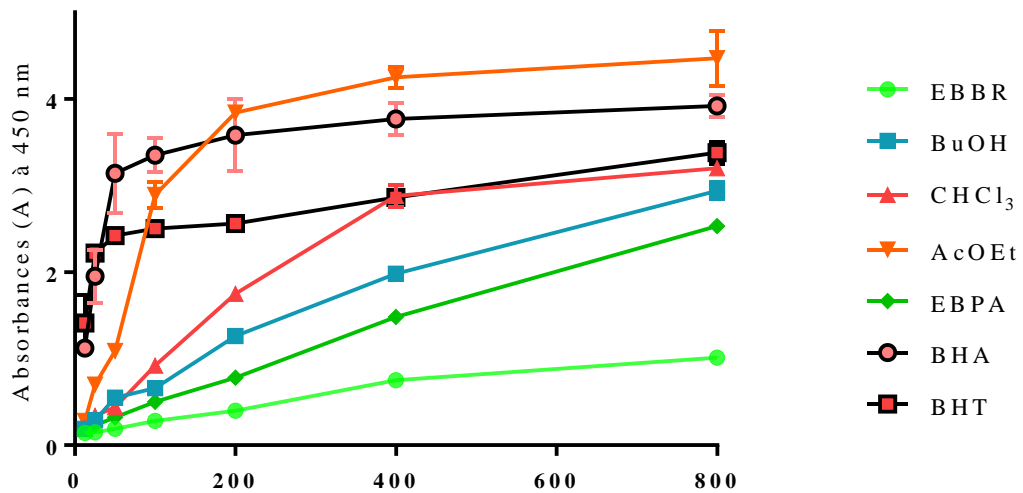
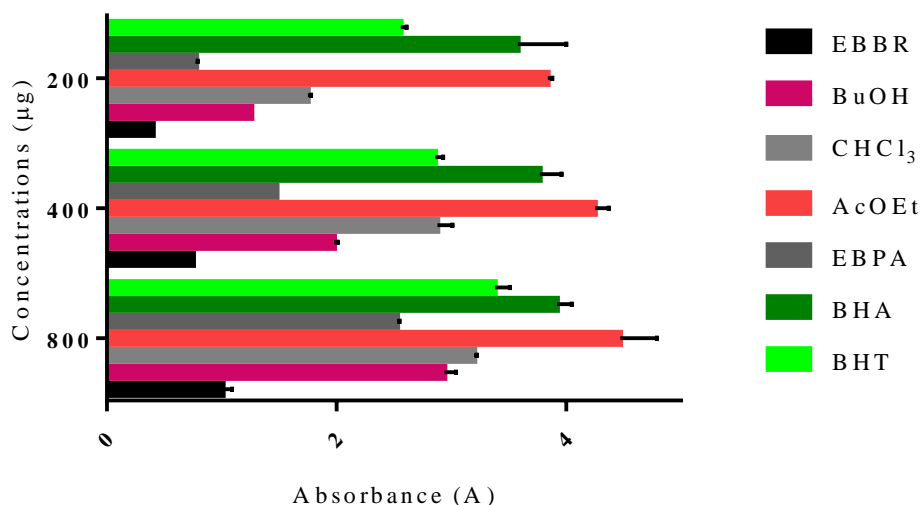


Figure 36b. Activité antioxydante des différents extraits de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards dans le test CUPRAC.

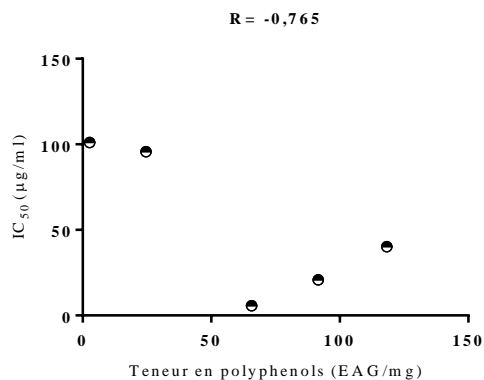


**Figure 36c.** Pourcentages d'inhibition des différents extraits de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards a 200, 400 et 800 µg/ml dans le test CUPRAC.

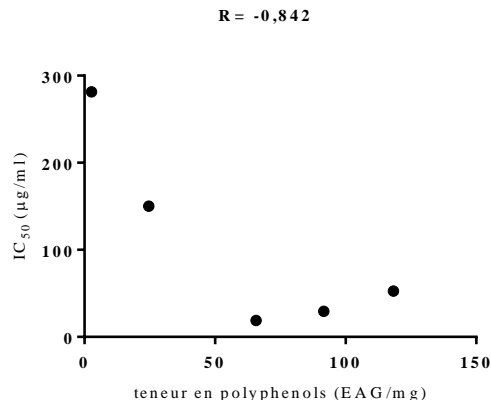
#### V-1-1- Corrélation entre pouvoir antioxydant et teneur en polyphénols

Pour mieux comprendre la corrélation entre le potentiel antioxydant exprimé en  $CI_{50}$  et la teneur en polyphénols dans les quatre méthodes étudiées, le coefficient de corrélation de Pearson Ra été calculé pour tous les extraits. Les valeurs de R varient entre -0,634 et -0,842, indiquant ainsi une forte corrélation négative entre la  $CI_{50}$  et la teneur en polyphénols, notamment dans les tests de DPPH<sup>•</sup> ou R= -0,842, ABTS<sup>•+</sup> ou R= -0,765 et CUPRAC ou R= -0,796, ce qui signifie que 84%, 76% et 80% respectivement de l'activité anti-radicalaire est due à la présence de polyphénols dans les différents extraits de la plante *B mauritanica* Pomel, selon Turkmen *et al.*, 2007, les polyphénols paraissent de forts donateurs d'hydrogènes au radical DPPH<sup>•</sup>, cependant cette corrélation était relativement faible dans le test du DMSO alcalin ou R=-0,634 signifiant ainsi que l'effet de piégeage du radical DMSO alcalin est dû à la présence d'une fraction considérable d'autres phytoconstituants, en effet la capacité de piégeage de l'anion superoxyde de la phase AcOEt (la phase la plus active), pourrait être dû à la présence de saponines dotés de propriétés anti-inflammatoires (Sparg *et al.*, 2004), car selon Saldanha *et al.*, 1990, il y'a une bonne corrélation entre la capacité de piégeage de l'anion superoxyde et l'activité anti-inflammatoire.

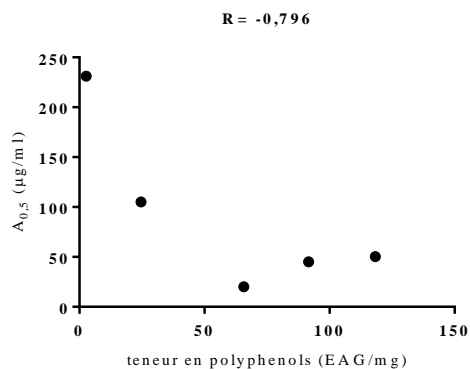
## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel



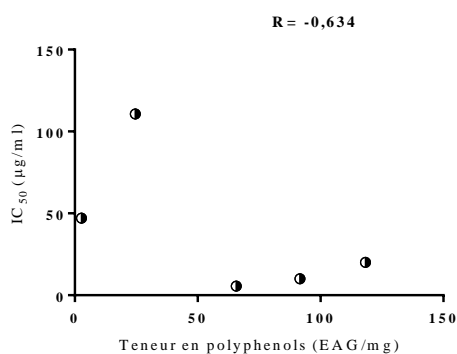
**Figure 37a.** Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante (CI<sub>50</sub>) des extraits testés dans le test ABTS<sup>•+</sup>



**Figure 37b.** Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante (CI<sub>50</sub>) des extraits testés dans le test DPPH<sup>•</sup>



**Figure 37c.** Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante (CI<sub>50</sub>) des extraits testés dans le test CUPRAC



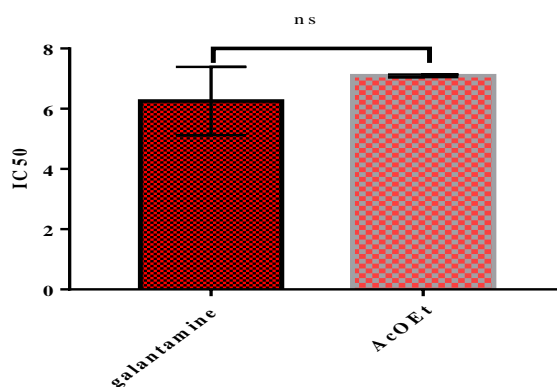
**Figure 37d.** Corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante (CI<sub>50</sub>) des extraits testés dans le test DMSO alcalin

En outre les polyphénols ne sont pas les seuls composés responsables de l'activité antioxydante (Moure *et al.*, 2001). L'effet de synergie ou antagoniste entre les antioxydants présents dans des échantillons ayant une composition similaire, mais qui diffèrent dans le potentiel antioxydant, fait que ce dernier ne dépend pas uniquement de la concentration mais aussi de la nature et de la structure de la molécule antioxydante (complexité et nombre de

groupes hydroxyles) (Balogh et al., 2010), ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante se basent sur différents mécanismes de réaction et les composés pouvant piéger un radical donné ne peuvent pas forcément piéger un autre, de ce fait ces facteurs peuvent affecter la corrélation entre teneur en polyphénols et activité antioxydante (Terpinc *et al.*, 2012).

### V-2- L'activité anti-cholinestérase

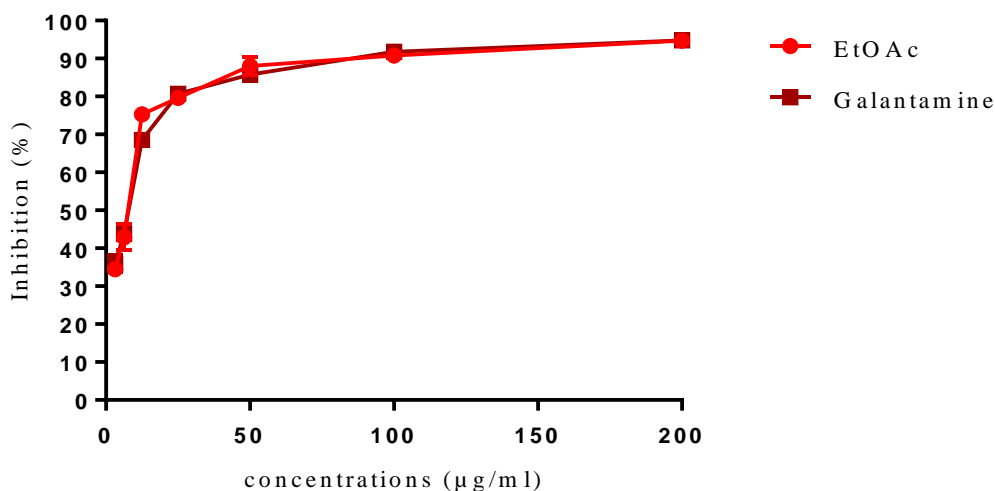
Quant à l'activité anticholinestérase utilisant deux enzymes : la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase, le seul extrait pouvant inhiber cette dernière était la phase AcOEt ayant une  $CI_{50} = 7,09 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$  proche de celle de la galantamine ( $CI_{50} = 6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$ ) utilisée comme standard et dont la différence était statistiquement non significative selon le test de Student (Figure 47a), en outre les pourcentages d'inhibition de la phase EtOAc et de la galantamine étaient très proches (Figures 47b, 47c). Pour la butyrylcholinestérase aucun extrait n'avait la capacité de l'inhiber. L'activité anti-acétylcholinestérase de la phase AcOEt pourrait être due à la présence des triterpènes (Ahmed *et al.*, 2013) et à la présence d'acides phénoliques (l'acide caféique à un taux élevé, en plus des acides férulique, *p*-coumarique et protocatechuique en quantités considérables) possédant une activité anti-cholinestestérase individuellement ou ensemble (Szwajgier, 2013).



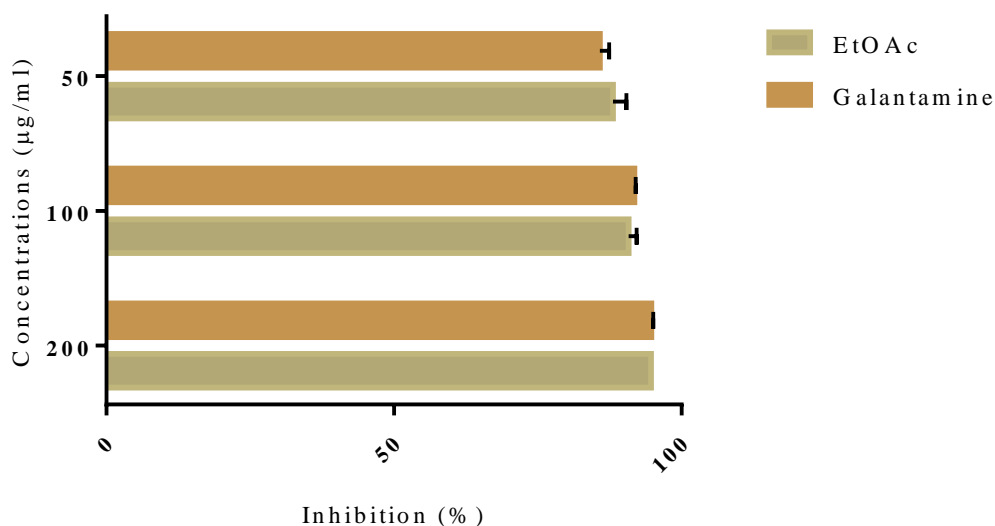
ns: non significatif ( $P > 0.05$ )

**Figure 38a.** Résultats de l'analyse de la variance t-test dans l'activité anti-acétylcholinestérase.





**Figure 38b.** Pourcentages d'inhibition de la phase EtOAc dérivée de l'extrait EBBR de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards dans l'activité anti-acétylcholinestérase.



**Figure 38c.** Pourcentages d'inhibition de la phase EtOAc dérivée de l'extrait EBBR de la plante *B. mauritanica* Pomel et des standards à 50, 100 et 200 µg/ml dans l'activité anti-acétylcholinestérase.

### V-3- L'activité antibactérienne

En ce qui concerne l'activité antibactérienne (Tableau 14), Contre la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, l'acétate d'éthyle avait une activité moyenne avec des zones d'inhibition de  $(11 \pm 0,58 \text{ mm})$  et  $(8,5 \pm 0,58) \text{ mm}$  à 100 mg/ml et 50 mg/ml respectivement, suivie de la phase chloroformique ayant une activité moyenne de  $(9,5 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 100 mg/ml.

**Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

---

Également contre la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633, la phase acétate d'éthyle avait une activité moyenne de  $(11 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 100 mg/ml et une faible activité  $(8 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 6,25 mg/ml et 50 mg/ml et  $(7 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 12,5 mg/ml et 25 mg/ml, suivi de l'extrait chloroformique à 100 mg/ml  $(9,5 \pm 0,58)$  et  $(8,5 \pm 0,58, 6,5 \pm 0,58 \text{ et } 9 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 50, 25 et 12,5 mg/ml respectivement, enfin l'extrait brut avait une faible activité  $(7,5 \pm 0,58 \text{ mm})$  à 100 mg.

Seules les deux souches Gram + étaient sensibles aux deux phases, cependant la phase 1-butanol et EBPA n'ont montré aucun effet contre toutes les souches pathogènes testées.

En raison de l'absence des études de l'activité antibactérienne des extraits des plantes du genre *Bellevalia* Lapeyr. d'après la littérature, nous avons comparé nos résultats avec ceux obtenus à partir des études de l'activité antibactérienne sur des extraits des plantes du genre *Muscari* ; genre proche du genre *Bellevalia* Lapeyr.

Une étude sur les extraits : cyclohexane, dichloromethane, méthanolique et aqueux de la partie aérienne de la plante *Muscari caucasicum* Baker, a mentionné l'absence d'activité de ces extraits contre les souches *S. aureus* et *E. coli* (Lotfipour *et al.*, 2008), résultats similaire a EBPA (inactif contre toutes les souches bactériennes testées), ce résultat est également similaire à l'extrait éthanolique de la partie aérienne de la plante *Muscari neglectum*, qui était inactif contre la souche *S. aureus*, par contre il avait un effet antibactérien considérable sur la souche *E. coli* (Mahboubi *et al.*, 2016).

## Chapitre 2 : Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anticholinestérase de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel

**Tableau 14.** Zones d'inhibition des extraits actifs <sup>a</sup> de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel et des antibiotiques <sup>b</sup> testés contre des souches pathogènes

	Gram positif		Gram négatif				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830	<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 29905
AcOEt <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	11 ± 0.58	11 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	8 ± 0.58	8 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
25	0.00 ± 0.00	7 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12,5	0.00 ± 0.00	7 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
6,25	0.00 ± 0.00	8 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
CHCl <sub>3</sub> <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	9.5 ± 0.58	9.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	0.00 ± 0.00	8.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
25	0.00 ± 0.00	6.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12,5	0.00 ± 0.00	9 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
EBBR <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	0.00 ± 0.00	7.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Oxa <sup>[b]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT	NT	NT
E <sup>[b]</sup>	22	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT
C <sup>[b]</sup>	28	NT	23	NT	NT	NT	25
Pi <sup>[b]</sup>	NT	NT	NT	NA	18	NT	NA <sup>[c]</sup>
PRL <sup>[b]</sup>	NT	NT	NT	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>
AK <sup>[b]</sup>	NT	NT	23	27	28	24	NT
CD <sup>[b]</sup>	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT	NT
CIP <sup>[b]</sup>	NT	27	NT	NT	NT	30	NT
AMC <sup>[b]</sup>	NT	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT

Ox: oxacilline (1µg/disc); Pi: acide pipemidique (20µg/disc); E: érythromycine (15µg/disc); PRL: piperacilline (100µg/disc); AMC: Augmentin (30µg/disc); C: chloramphénicol (30µg/disc); CD: clindamycine (2µg/disc); AK: Amikacine (30µg/disc); CIP: ciprofloxacine (5µg/disc). <sup>[c]</sup>NA : Non actif. Nt: Non testé. N.B. le DMSO (diméthyl sulfoxyde) était utilisé comme contrôle négatif. <sup>[a]</sup>Valeurs exprimées en moyenne ±S.D. de trois essais parallèles (n=3). <sup>[b]</sup>antibiotiques utilisés comme composés de référence.

# **Synthèse générale, Conclusions et perspectives**

## Synthèse générale, conclusions et perspectives

## I- Enquête ethnobotanique sur les plantes utilisées dans la région de Constantine et Mila

Les résultats de l'enquête ethnobotanique réalisée sur les plantes médicinales de la région de Constantine et Mila, a révélé une grande diversité de plantes médicinales utilisées dans la région, ainsi qu'un savoir ethnobotanique élevé, notamment chez les vieux pour la population locale (entre 61 ans et 90 ans), cette catégorie a été choisie en raison du savoir ethnobotanique transmis de génération en génération, car dans le temps on préférerait se traiter par ces plantes pour leur accessibilité et efficacité. Concernant les herboristes la majorité qui exercent cette profession était des jeunes (entre 30 et 40 ans) qui eux aussi ont hérité leur savoir ethnobotanique de leurs ascendants tandis que la catégorie d'âge qui a cité le plus grand nombre de plantes était celle comprise entre 51 et 60 ans.

Dans cette étude 102 plantes appartenant à 90 genres distribuées à travers 53 familles ont été citées par les informateurs, avec la dominance des : Lamiaceae, Apiaceae et Asteraceae (30%, 13%, et 11% respectivement), cette dominance est similaires aux résultats trouvés dans d'autre régions Algérienne et méditerranéenne. Les espèces citées dans la présente étude appartenaient principalement aux herbes (51%), arbustes (25%), arbres (13%), arbrisseaux (4%), petits buissons, et plantes grimpantes (2%) ayant le même nom vernaculaire dans les différentes communes des deux wilayas. Les parties les plus utilisées étaient les feuilles étant faciles à obtenir. Quant aux méthodes de préparation, la plus utilisée était l'infusion (72%) suivi de la décoction (45%) ceci pourrait être expliqué par le fait que la chaleur facilite l'extraction des principes actifs rapidement, il a été reporté que certaines plantes sont utilisées seules, tandis que d'autres sont utilisées avec un adjuvant principalement le miel (72%) surtout pour tolérer le goût amer de certaines plantes. En outre certaines d'entre elles ne sont pas utilisées uniquement pour se traiter mais aussi elles ont un usage culinaire à savoir : *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Crocus sativus* L., *Ocimum basilicum* L., *Lavandula stoechas* L., *Mentha pulegium* L., *Mentha x piperita* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, *Nigella damascena* L., *Zingiber officinale* Roscoe.

L'analyse quantitative nous a permis de discuter les résultats obtenus d'une manière scientifique, en effet, la valeur d'usage (UV) la plus élevée a été trouvée pour *Origanum glandulosum* Desf. (2.280), cette valeur nous permet de connaître la plante la plus citée par les informateurs, le niveau de fidélité (FL) était trouvé pour *Tilia cordata* Mill. (100%) pour les maladies cardiologiques, suivi de *Artemisia herba alba* Asso. avec un FL de 95,74% et

**Synthèse générale, conclusions et perspectives**

*Punica granatum* L. avec un FL de 93,09 % pour les maladies gastro-intestinales et *Aloe* sp. L. avec un FL de 96,67% pour les maladies dermatologiques, cet indice quantitatif nous permet d'avoir une idée sur l'efficacité de la plante contre une maladie précise. Ces plantes traitent 14 catégories de maladies avec le facteur consensus des informateurs (ICF) le plus élevé (0,87) pour les maladies gastro-intestinales, cet indice évalue l'homogénéité de l'information entre les informateurs, c'est-à-dire que les plantes citées pour le traitement de ces maladies, quant à la fréquence relative (RFC), les valeurs les plus élevées ont été trouvées pour *Origanum glandulosum* Desf. (0,91), *Rosmarinus officinalis* L. (0,78), *Artemisia herba alba* Asso. (0,75), *Trigonella foenum-graecum* L. (0,72), *Punica granatum* L. (0,69), *Anthemis nobilis* L., *Ocimum basilicum* L., *Myrtus communis* L. (0,66), *Salvia officinalis* L., *Nigella damascena* L. (0,62). Elles représentent les plantes les plus communes et les plus sollicitées par la population dans les deux villes. Dans cette étude de nouvelles espèces ont été reportées 12 espèces en comparaison avec d'autres régions du monde et 28 espèces en comparaison avec d'autres régions Algériennes, dont une est endémique *Zygophyllum cornotum* Coss. avec de nouveaux usages médicaux de plantes déjà connues.

**II- Profil phytochimique, activités antioxydante, antibactérienne et anti-Alzheimer de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel**

D'après le dosage des flavonoïdes et polyphénols totaux effectué sur les cinq extraits en l'occurrence : l'extrait brut de la partie aérienne (EBPA), l'extrait brut bulb-racines (EBBR) et ses phases : chloroformiques (CHCl<sub>3</sub>), acétate d'éthyle (AcOEt) et butanolique (BuOH), l'extrait le plus riche était la phase (CHCl<sub>3</sub>) suivi de la phase BuOH et de la phase AcOEt. L'analyse qualitative par LC-MS –IT-TOF, nous a permis de déterminer la présence de 91 phytoconstituants dans les trois phases, seulement les composés ayant une intensité supérieure à 250000 ont été retenus, à son tour l'analyse quantitative des trois phases par une méthode validée de LC-MS/MS (Yilmaz *et al.*, 2018), nous a permis d'identifier et de détecter 13 phytoconstituants parmi 37 standards entre flavonoïdes, acides phénoliques et aldéhydes. Les phases étaient riches en acides phénoliques plutôt qu'en flavonoïdes. La phase EtOAc contient de l'acide caféique (1240,7 µg/g extrait) et la phase CHCl<sub>3</sub> contient de la vanilline (2048,5 µg/g extrait) en quantités élevées comme composés majoritaires. La vanilline est utilisée dans l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et la cosmétologie. Il a été rapporté qu'elle présente de nombreuses activités telles que : les activités antimutagène, anti angiogénétique, anti-colite, anti-faucilletage, et des effets

## Synthèse générale, conclusions et perspectives

antianalgésiques (Tai *et al.* 2011). Elles contiennent aussi des quantités considérables de certains phytoconstituants comme l'acide protocatechuique (274,3 et 145,2 µg/g extrait), l'acide *p*-coumarique (382,8 et 310,9 µg/g extrait), l'acide férulique (361,2 et 969,4 µg/g extrait) et le kaempférol (146,7 et 150,6 µg/g extrait), respectivement et l'acide syringique (138,2 µg/g extrait) dans la phase CHCl<sub>3</sub>. Néanmoins elles contiennent de faibles quantités d'acide salicylique (19,2 et 15,5 µg/g extrait), d'apigétrine (12,1 et 5,3 µg/g extrait) et de lutéoline (9,5 et 42,4 µg/g extrait) respectivement. La phase BuOH était la plus pauvre en ces phytoconstituants. Concernant l'activité antioxydante évaluée par 4 méthodes : le DPPH<sup>•</sup>, l'ABTS<sup>•+</sup>, le test CUPRAC et le superoxyde DMSO alcalin, l'extrait le plus actif parmi les extraits testés était la phase AcOEt dans les quatre méthodes, le DPPH<sup>•</sup> (CI<sub>50</sub> = 18,92 ± 0,56 µg/ml), le BHA (CI<sub>50</sub> = 6,14 ± 0,41 µg/ml), le BHT (CI<sub>50</sub> = 12,99 ± 0,41 µg/ml) et l'α-tocophérol (CI<sub>50</sub> = 13,02 ± 5,17 µg/ml), ABTS<sup>•+</sup> (CI<sub>50</sub> = 5,70 ± 0,07 µg/ml), BHA (CI<sub>50</sub> = 1,81 ± 0,10 µg/ml) et BHT (CI<sub>50</sub> = 1,29 ± 0,30 µg/ml), et le superoxyde DMSO alcalin (CI<sub>50</sub> = 5,70 ± 0,07 µg/ml), l'α-tocophérol (CI<sub>50</sub> = 1,33 ± 0,04 µg/ml), et l'acide ascorbique (CI<sub>50</sub> = 0,5 ± 0,004 µg/ml), en effet la différence entre sa CI<sub>50</sub> et celles des standards utilisés comme contrôle positif était statistiquement non significative d'après le test ANOVA dans trois méthodes, tandis que pour le test CUPRAC la différence était significative entre l'A<sub>0,5</sub> de la phase AcOEt (A<sub>0,50</sub> = 20,16 ± 0,32 µg/ml) et celles des standards utilisés : le BHA (A<sub>0,5</sub> = 5,35 ± 0,71 µg/ml) et le BHT (A<sub>0,5</sub> = 9,62 ± 0,87 µg/ml). L'activité superoxyde scavenging de la phase AcOEt pourrait être due à son pouvoir anti-inflammatoire, surtout qu'il contient les saponines (Sparg *et al.*, 2004), en effet il y'a une bonne corrélation entre l'activité superoxyde scavenging et l'activité anti-inflammatoire selon Saldanha *et al.*, 1990 outre de l'acide caféique en quantités élevées et la kaempférol en quantités considérables identifiés par LC-MS/MS Calderón-Montaña *et al.*, 2011 ; El-Gabbas *et al.*, 2019). Les extraits ayant le potentiel antioxydant le plus faible étaient l'EBBR et l'EBPA dans toutes les méthodes. Cependant une étude a rapporté la puissance antioxydante élevée des extraits de *Bellevalia gracilis* Feinbrun dans le statut antioxydant total (TAS) allant de 4.169 à 1.301 mmol Trolox Equiv./L. (Gikcikoglu et Yuce, 2013).

La corrélation entre activité antiradicalaire et teneur en polyphénols est une forte corrélation négative, notamment dans les tests : DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> et CUPRAC (R = -0,842, R = -0,765 et R = -0,796) respectivement et relativement faible dans le test du DMSO alcalin ou R = -0,634 suggérant ainsi que l'effet antioxydant est dû à la présence de composés non-phénoliques, d'autant plus que la plante contient les saponines ayant une activité anti-

### Synthèse générale, conclusions et perspectives

inflammatoire pouvant être responsables du piégeage de l'anion superoxyde (Saldanha *et al.*, 1990 ; Sparg *et al.*, 2004).

Quant à l'activité anticholinestérase utilisant deux enzymes : la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase, le seul extrait pouvant inhiber cette dernière était la phase AcOEt ayant une  $CI_{50} = 7.09 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$  proche de celle de la galantamine ( $CI_{50} = 7.09 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ ) utilisée comme standard et dont la différence était statistiquement non significative selon le test de Student. Pour la butyrylcholinestérase aucun extrait n'avait la capacité de l'inhiber. L'activité anti-acétylcholinestérase de la phase AcOEt pourrait être due à la présence des triterpènes (Ahmed *et al.*, 2013) et les acides phénoliques (l'acide caféique à un taux élevé, en outre des acides férulique, *p*-coumarique et protocatechuique) en quantités considérables, possédant une activité anti-cholinestérase individuellement ou ensemble (Szwajgier, 2013).

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, contre la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, l'acétate d'éthyle possède une activité moyenne avec des zones d'inhibition de ( $11 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) et ( $8,5 \pm 0,58$ ) mm à 100 mg/ml et 50 mg/ml respectivement, suivi par la phase chloroformique ayant une activité moyenne de ( $9,5 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 100 mg/ml.

Également contre la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633, la phase acétate d'éthyle possède une activité moyenne de ( $11 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 100 mg/ml et une faible activité ( $8 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 6,25 mg/ml et 50 mg/ml et ( $7 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 12,5 mg/ml et 25 mg/ml, suivi de la phase chloroformique à 100 mg/ml ( $9,5 \pm 0,58$ ) suivi de ( $8,5 \pm 0,58$ ,  $6,5 \pm 0,58$ ,  $9 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 50, 25 et 12,5 mg/ml respectivement, enfin l'extrait brut avec une faible activité ( $7,5 \pm 0,58 \text{ mm}$ ) à 50 mg.

Seules les deux souches Gram + étaient sensibles aux trois extraits, cependant les extraits 1-butanol et la partie aérienne n'ont montré aucun effet contre toutes les souches pathogènes testées.

En comparant la composition des extraits, la phase  $\text{CHCl}_3$  possède une composition similaire à celle de la phase AcOEt, ce pendant cette dernière était plus active, spécialement dans les activités antioxydantes et antibactériennes, ce qui pourrait être expliqué par le fait que la phase  $\text{CHCl}_3$  contient plus de métabolites comme les métabolites primaires, pouvant interférer avec les métabolites secondaires par un effet antagoniste (Gonulalan *et al.*, 2019).



## Conclusions et perspectives

### Conclusions

La présente thèse nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

A partir du criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila : l'enquête ethnobotanique et ethnopharmacologique nous a permis de recueillir d'importantes informations, en sachant que les connaissances ethnobotaniques en Algérie ont tout le temps été transmises verbalement par les herboristes et la population locale. Sur le plan socio-économique, nous sollicitons les autorités locales d'appliquer le concept de phytovigilance sur les plantes médicinales à l'instar des médicaments synthétiques et ce afin d'éviter tout risque d'empoisonnement. Aussi cette étude comme toutes les études ethnobotaniques et ethnopharmacologique, sert à orienter les chercheurs dans le domaine de phytochimie et de pharmacologie dans le choix du substrat, pour des travaux ultérieurs d'autant plus qu'elle a révélé les familles de plantes les plus utilisées, ce qui mérite de les étudier d'une manière approfondie ainsi que les principes actifs qu'elles renferment, ce qui aidera à affiner les recherches par le ciblage d'activités biologiques précises, en considérant que ce savoir ethnobotanique n'est pas basé sur des connaissances scientifiques donc il serait nécessaire de réaliser des enquêtes ethnobotaniques en permanence dans différentes régions en Algérie.

A partir de l'étude phytochimique : nous avons pu identifier pour la première fois la composition phénolique de la plante endémique Nord-Africaine *Bellevalia mauritanica* Pomel, cette dernière est plutôt riche en acides phénoliques qu'en flavonoïdes, en outre l'évaluation des activités anti-oxydante, antibactérienne et anticholinestérase des différents extraits, montrait un effet modéré de ces derniers, en plus il existe une forte corrélation négative entre le pouvoir anti-radicalaire de la plante étudiée et sa teneur en polyphénols notamment dans les tests : DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> et CUPRAC, tandis que la phase acétate d'éthyle de l'extrait brut de la partie sous terrain, possède un effet inhibiteur considérable de l'acétylcholinestérase. Le screening phytochimique sur plaque révélait à son tour la présence de triterpènes, saponines, anthrones, anthranols et quinones libres qui méritent d'être identifiés par la suite, ainsi que l'isolement des constituants de la phase acétate d'éthyle (la phase la plus active) pour déterminer le ou les composés responsables de l'activité biologique, afin d'affirmer leur effet de synergie ou leur effet antagoniste.

## Conclusions et perspectives

### Perspectives

D'après les résultats fournis par la présente thèse, nous envisageons de :

- Continuer à effectuer des enquêtes ethnobotaniques qui restent restreintes en Algérie, en plus de leur utilité dans le domaine de phytochimie.
- Isoler des composés de la plante endémique Nord-Africaine *Bellevalia mauritanica* Pomel, à partir de l'extrait le plus actif qui est l'acétate d'éthyle, en plus des homoisoflavonoïdes ; biomarqueurs du genre *Bellevalia* Lapeyr. qui sont dotés de plusieurs potentialités thérapeutiques.
- Evaluer d'autres activités biologiques de la plante étudiée par des méthodes enzymatiques et antiprolifératives.

## Références bibliographiques

### A

- Adinolfi, M., Aquila, T., Parrilli, G., Barone Lanzetta, R., 1989. Homoisoflavanones from *Bellevalia romana*. *Phytochemistry*. 28 (11), 3244-3246.
- Adinolfi, M., Barone, G., DelaGreca, M., Mangoni, L., 1990. Isolation and structure of bellevaliosides. *Gazz. Chim. Ital.* 120, 427-433.
- Ahmed, F., Ghalib, R.M., Sasikala, P., Mueen Ahmed, K.K., 2013. Cholinesterase inhibitors from botanicals. *Phrog review*. 7 (14), 121-130.
- Akerreta, S., Cavero, R.Y., Calvo, M.I., 2007. First comprehensive contribution to medical ethnobotany of Western Pyrenees. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3, 26.
- Alali, F., El-Elimat, T., Albataineh, H., Al-Balas, Q., Al-Gharaibeh, M., Falkinham, J. O., Chen, W.N., Swanson, S.M., Oberlies, N.H., 2015. Cytotoxic homoisoflavones from the bulbs of *Bellevalia egii*. *J. Nat. Prod.* 78, 708–1715.
- Alam, N., Bristi, N.J., Rafiqzaman, 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm. J.* 21, 143-152.
- Al-Qura'n, S., 2009. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. An ethnopharmacology survey. *J. Ethnopharmacol.* 123, 45–50.
- Andreadis, A.A., Hazen, S.L., Comhair, S.A., Erzurum, S.C., 2003. Oxidative and nitrosative events in asthma. *Free Radic Biol Med.* 35, 213–225.
- Andrade-Cetto, A., 2009. Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *J. Ethnopharmacol.* 122, 163–171.
- Andrien, J., 2013. Flore de la Région de Constantine, ed. Forgotten Books (Original work published 1894), London.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 26, 7970-7981.
- Arthur, J.R., 2000. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 57, 1825–1835.
- Asami, S., Manabe, H., Miyake, J., Tsurudome, Y., Hirano, T., 1997. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis*. 18, 1763–1766.

### B

- Baba Aissa, F., 1991. Medicinal plants in Algeria, in Bouchène and Ad. Diwan (Eds.), Identification, description of active ingredient properties and traditional use of common plants in Algeria, Algiers, pp.1–181.
- Balogh, E., Hegedus, A., Stefanovits-Banyai, E., 2010. Application of and correlation among antioxidant and antiradical assays for characterizing anti-oxidant capacity of berries. *Scientia Horticult.* 125, 332–336.
- Battandier, J.A., Trabut, L.C., 1893. Flore de l'Algérie, Adolphe Jourdan, Alger.
- Battandier, J.A., Trabut, L.C., 1888. Flore de l'Algérie, Ancienne flore d'Alger transformée, ed. Adolphe Jourdan, Alger.
- Baudry, C., Brézellec, H., 2006. Microbiologie, immunologie, Wolters Kluwer, France.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, 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.
- Benbelkacem, S., 2010. Contribution à l'étude cytogénétique de l'espèce *Bellevalia mauritanica* Pomel (Hyacinthaceae) endémique de l'Afrique du nord. Université Frères Menrouri, Constantine 1.
- Benhamza, L., Djerrou, Z., 2014. Ethnopharmacological survey of medicinal plants from eastern Algeria: traditional treatment of type II diabetes. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* 5, 234-238.

- Benitez, G., Gonzalez Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *J. Ethnopharmacol.* 129, 87–105.
- Bensouici, C., 2015. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (Crassulaceae). Université frères Mentouri, Constantine 1.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *WAO journal.* 5, 9-19.
- Biondi, D., Cianci, P.A., Geraci, C., Ruberto, G., 1993. Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants, *Flavor fragr. j.* 8, 331-377.
- Blackwell, W.H., 1990. *Poisonous and Medicinal Plants*. Prentice-Hall International, Inc, Englewood Cliffs, New Jersey (USA).
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 4617 (181), 1119-1200.
- 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.
- Brahmi, F., Hauchard, Didier, Guendouze, Naima., Madani, Khodir., Kiendrebeogo, Martin., Kamagaju, L., Stévigny, C., Chibane, Mohamed., Duez, P., 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *J. Industrial Crops and Products.* 74, 722–730.
- Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales*. Tec & Doc, Paris.
- Bourdy, G., Willcox, M.L., Ginsburg, H., Rasoanaivo, Ph., Graz, B., Deharo, E., 2008. Ethnopharmacology and malaria: New hypothetical leads or old efficient antimalarials.. *International Journal for Parasitology.* 38, 33-41.
- Bourne, Y., Taylor, P., Marchot, P., 1995. Acetylcholinesterase inhibition by fasciculin: crystal structure of the complex. *Cell.* 83, 503–512.
- Bowers, L.D., Sanaullah, 1996. Direct measurement of steroid sulfate and glucuronide conjugates with high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.* 687 (1), 61-68.
- Bremer K., 1994. *Asteraceae, Cladistics and Classification*. (Timber Press), Portland, Oregon.
- Brullo, C., Brullo, S., Pasta, S., 2009. *Bellevalia pelagica* (Hyacinthaceae), a new species from the islet of Lampione (Pelagian Archipelago, Sicily). *Edinburgh journal of botany* 66 (1), 65–75.
- Bunker, V.W., 1992. Free radicals, antioxidants and ageing. *Med LabSci.* 49, 299–312.

## C

- Calderón-Montaño, J.M., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., López-Lázaro, M., 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol, *Mini-Rev. Med. Chem.* 11, 298-344.
- Carrió, E., Vallès, J., 2012. Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). *J. Ethnopharmacol.* 14, 1021-1040.
- Carip, C., Béraud, J., Dorsainvil, E., Salavert, M.E., Tandeau, A., 2008. *Bases microbiologiques de la diététique*, TEC & DOC, Paris.
- Chaabi, M., 2008. Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Université frères Mentouri, Constantine 1.
- Chase MW, Duvall MR, Hills HG, Conran J, Cox AV, Eguiarte LE, Hartwell J, Fay MF, Caddick LR, Cameron KM, Hoot S (1995) Molecular phylogenetics of Lilianae. In: Rudall, P. J., Cribb, P.J., Cutler, D.F., Humphries, C.J. (eds.) *Monocotyledons: systematic and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, London, pp. 109-137.

- Chase, M.W., Reveal, J.L., Fay, M.F., 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 161, 132-136.
- Chatonnet, A., Lockridge, O., 1989. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochem. J.* 260, 625–634.
- Cikcikoglu Yildirim, N., Paksoy, M.Y., Yuce, E., Yildirim, N., 2013. Total antioxidant status and antifungal activities of endemic geophytic plants collected from Munzur valley in Tunceli, Turkey. *Dig. J. Nanomater. Bios.* 8, 403-408.
- Colletier, J.P., 2006. Dynamique-fonction au sein de l'acétylcholinesterase. Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- CNRS France, 2012. Définition de l'ethnobotanique. <http://www.cnrtl.fr/definition/ethnobotanique> (consulté le 14 Mai 2019)
- Climate Algeria, 2016. Climate of Mila city. <http://climate-data.org> (consulté le 22 février 2016)
- Courvalin PF, Denis MC, PloyMPd, garilhe P, Trieu-Culot, Universalis (2001) Antibiotiques. Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., 1997 In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan, B.; Gruissem, W., Jones, R., 2000. eds.; American Society of Plant Physiologists; lipids and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 68, 2061–2069.

## D

- Dafni, A., Yaniv, Z., Palevitc, D., 1984. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northern Israel. *J.Ethnopharmacol.* 10, 295-310.
- Davies, P., Maloney, A.J., 1976. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet.* 2, 1403.
- Davies, K.J., 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *J BiolChem.* 262, 9895–9901.
- de Hoffmann, E., Charrette, J., Stroobant, V., 1999. *Spectrométrie de masse*, Dunod, Paris.
- Dean, R.T., Roberts, C.R., Jessup, W., 1985. Fragmentation of extracellular and intracellular polypeptides by free radicals. *Prog Clin Biol Res.* 180, 341–350.
- De Tommasi, N., Piacente, S., Gacs-Baitz, E., De Simone, F., Pizza, C., Aquino, R., 1998. Triterpenoid saponins from *Spergularia ramosa*. *J. Nat. Prod.* 61, 323.
- Donato, L.J., Noy, N., 2005. Suppression of mammary carcinoma growth by retinoic acid: proapoptotic genes are targets for retinoic acid receptor and cellular retinoic acid-binding protein II signaling. *Cancer Res.* 65, 8193–8199.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2010. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord, 4Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2011. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord, 4Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2012. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord. Genève, 4 Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Dupuy, C., Virion, A., Ohayon, R., Kaniewski, J., Dème, D., Pommier, J., 1991. Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *J Biol Chem.* 266, 3739–3743.
- Dykes, L., Rooney, L.W., 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants, *Rev. J. Cereal. Sci.*, 44, 236–25.

**E**

- Eastman, J., Wilson, E.J., Cervenansky, C., Rosenberry, T.L., 1995. Fasciculin 2 binds to the peripheral site on acetylcholinesterase and inhibits substrate hydrolysis by slowing a step involving proton transfer during enzyme acylation. *J Biol Chem.* 270, 19694- 19701.
- El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, A., Phillip, D.M., Truscott, T.G., 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch BiochemBiophys.* 430, 37–48.
- El Beyrouthy, M., Arnold, N., Delelis-Dusollier, A., Dupont, F., 2008. Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *J. Ethnopharmacol.* 120, 315-334.
- El-Elimat, T., Rivera-Chávez, J., Burdette, J.E., Czarnecki, A., Alhawarri, M.B., Al-Gharaibeh, M., Alali, F., Oberlies, N.H., 2018. Cytotoxic homoisoflavonoids from the bulbs of *Bellevalia flexuosa*. *Fitoterapia.* 127, 201-206.
- El Gabbas, Z., Bezza, K., Laadraoui, J., Ait Laaradia M., Kebbou Oufquir, A. S., Boukhira, A, Aboufatima, R., Chait, A., 2019. *Salvia officinalis*, rosmarinic and caffeic acids attenuate neuropathic pain and improve function after sciatic nerve chronic constriction in mice. *Evid. Based complementary alterna. Med.* 2019, 1-17.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feathersone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95.
- El-Seedi, H.R., Burman, R., Mansour, A., Turki, Z., Boulos, L., Gullbo, J., Goransson, U., 2012. The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptianplants: Discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*. *J. Ethnopharmacol.* 145, 746-757.
- Encyclopaedia Universalis France, 2019. <http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcaloides/15-interet-therapeutique/> (consulté le 14 Mai 2019).
- Eriksson, H., Augustinsson, K., B. 1978. A mechanistic model for butyrylcholinesterase. *Biochimica et Biophysica Acta.* 567, 161-173.

**F**

- Fay, M.F., Chase, M.W., 1996. Resurrection of Themidaceae for the *Brodiaea* alliance, and recircumscription of Alliaceae, Amaryllidaceae and Agapanthoideae. *Taxon.*45, 441–451.
- Fay, M.F., Rudall, P.J., Sullivan, S., Stobart, K.L., de Bruijn, A.Y., Qamaruz-Zaman, F., Hong, W.P., Hahn, W.J., Conran, J.G., Chase, M.W., 2000. Phylogenetic studies of Asparagales based on three plastid DNA loci. In: Wilson KL, Morrison D. ed *Monocots.– Systematics and Evolution* CSIRO Melbourne. pp. 360-371.
- Fay, M.F., Rudall, P.J., Chase, M.W., 2006. Molecular studies of subfamily Gilliesioideae (Alliaceae). *Aliso* 22, 367–371.
- Fakchich, J., Elachouri, M., 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.* 154, 76–87.
- Fenton, H.J.H., 1984. Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J Chem Soc.* 65, 899–910.
- Fitzpatrick, A.M., Teague, W.G., Holguin, F., Yeh, M., Brown, L.A., 2009. Severe Asthma Research Program. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: evidence for oxidant stress. *J Allergy Clin Immunol.* 123, 146–152.
- Feinbrun-Dothan, N., 1940. A monographic study on the genus *Bellevalia* Lapeyr. *Palestine J Bot.* 1, 336-409.
- Friedman, J., Yaniv, Z., Dafni, A., Palewitch, D., 1986. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on arational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *J.Ethnopharmacol.* 16, 275–287.
- Flohé L (1988) Glutathione peroxidase. *Basic Life Sci.* 49: 663–668.

### G

- Garvey, M.I., Rahman, M.M., Gibbons, S., Piddock, L.J.V., 2010. Medicinal plant extracts with efflux inhibitory activity against Gram-negative bacteria. *Intern.J. Antimicrob. Agents.* 37(2), 145-151.
- Ghulam, Y., Mushtaq, A., Shazia, S., Alharrasi, A., Javid, H., Zafar, M., Rehman, S., 2015. Ethnobotany of Medicinal Plants in the Thar Desert (Sindh) of Pakistan. *J. Ethnopharmacol.* 163, 43–59.
- Girotti, A.W., 1985. Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med.* 1, 87–95.
- Gonulalan, E., Nemutlu, M.E., Demirezer, L. O., 2019. A new perspective on evaluation of medicinal plant biological activities: The correlation between phytochemicals and matrix metalloproteinases activities of some medicinal plants, *Saudi Pharm. J.* 27(3), 446-452.
- Gonzalez-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadijchambi, D., Hadjichambis, A., Houmanien, Z., El-Demerdash, M., El Zayat, M., Hmamouchi, M., ElJohrig, S. 2008. Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J.Ethnopharmacol.* 116, 341–357.
- Granger, D.N., 1988. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemic perfusion injury. *Am J Physiol.* 255, H1269–H1275.
- Grice, H. C., 1988. Safety evaluation of butylated hydroxyanisole from the perspective of effects on the stomach. *Fd Chem. Toxic.* 26(8), 717–723.
- Gromer, S., Urig, S., Becker, K., 2004. The thioredoxin system from science to clinic. *Med Res Rev.* 24, 40-89.
- Groupe Made In Futura, 2001-2019. <http://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-plante-medicinale-11529/> (consulté le 14 Mai 2019).
- Gruca, M., Blach-Overgaard, A., Balslev, H., 2015. African palm ethno-medicine. *J. Ethnopharmacol.* 165, 227-237.
- Güler, B., Manav, E., Uğurlu, E., 2015. Medicinal plants used by traditional healers in Bozüyük (Bilecik–Turkey). *J.Ethnopharmacol.* 173, 39-47.
- Gurdal, B., Kultur S., An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Mugla, Turkey). *J.Ethnopharmacol.* 146, 113-126.
- Güzel, Y., Güzelşemme, M., Miski, M., 2015. Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: A multicultural district in Hatay Province of Turkey. *J.Ethnopharmacol.* 174, 118-152.

### H

- Hammiche, V., Maiza, K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopeia of Tassili N'ajjer. *J.Ethnopharmacol.* 105, 358–367.
- Harel, M., Kleywegt, G.J., Ravelli, R.B., Silman, I. & Sussman, J.L., 1995. Crystal structure of an acetylcholinesterase fasciculin complex: interaction of a three-fingered toxin from snake venom with its target. *Structure.* 3, 1355–1366.
- Hayes, J.D., Pulford, D.J., 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 30, 445–600.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O., 1998. Medicinal plants in Mexico: healers's consensus and cultural importance. *Social Science and Medicine.* 47, 1859- 1871.
- Herzi, N., 2013. Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).



-Hostettmann, K., Borloz, A., Urbain, A., Marston, A., 2006. Natural product inhibitors of acetylcholinesterase. *Current Organic Chemistry*. 10, 828-847.

### J

-Jakobsson, P.J., Morgenstern, R., Mancini, J., Ford-Hutchinson, A., Persson, B. 1999. Common structural features of MAPEGda widespread superfamily of membrane associated proteins with highly divergent functions in eicosanoid and glutathione metabolism. *Protein Sci*. 8, 689–692.

-Jaradat N.A., Ayesh O.I., Anderson C., 2016. Ethnopharmacological survey about medicinal plants utilized by herbalists and traditional practitioner healers for treatments of diarrhea in the West Bank/ Palestine. *J. Ethnopharmacol*. 182, 57-66.

-Jenner, P., 2003. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 53, S26–S36.

-Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Seddik, A., Jana, M., 1999. Hypoglycaemic response to *Zygophyllum gaetulum* extracts in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol*. 64, 211–217.

-Jouad, H., Lemhadri, A., Maghrani, M., Zeggwagh, N.A., Eddouks, M., 2003. Cholesterol-lowering activity of the aqueous extract of *Spergularia purpurea* in normal and recent onset diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*. 87, 43–49.

### K

-Kaddem, S.E., 1990. Les plantes médicinales en Algérie, ed. Bouchène, Oued Zenati, Algérie.

-Kadir, M.F., Bin Sayeed, M.S., Mia, M., 2012. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by indigenous and tribal people in Rangamati, Bangladesh. *J. Ethnopharmacol*. 144, 627–637.

-Kadir, M.F., Bin Sayeed, M.S., Mia, M., 2013. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by traditional healers in Bangladesh for gastrointestinal disorders. *J. Ethnopharmacol*. 147, 148–156.

-Kayani, S., Ahmad, M., Sultana, S., Khan Shinwari, Z., Zafar, M., Yaseen, G., Hussain, M., Bibi, T., 2015. Ethnobotany of medicinal plants among the communities of Alpine and Sub-alpine regions of Pakistan. *J. Ethnopharmacol*. 164, 186–202.

-Karabacak, O., Yildirim, H., Martin, E., 2014. *Bellevalia pseudolongipes* sp. nov. (Asparagaceae): a new species from southeastern Anatolia, Turkey. *Phytotaxa*. 188 (4), 209-217.

-Khled khoudjaa, N., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *J. Industrial Crops and Products*. 52, 177– 182.

-Kiely, J.S., Moos, W.H., Pavia, M.R., Schwarz, R.D., Woodward, G.L., 1991. *Anal. Biochem*. 196: 439.

-Kindervater, R., Künnecke, W., Schmid, R.D. Exchangeable immobilized enzyme reactor for enzyme inhibition tests in flow-injection analysis using a magnetic device. Determination of pesticides in drinking water. *Anal. Chim. Acta*, 1990, 234, 113.

-Kinnula, V.L., Crapo, J.D., 2003. Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 167, 1600–1619.

-Kinnula, V.L., 2005. Production and degradation of oxygen metabolites during inflammatory states in the human lung. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 4, 465–470.

-Kirkman, H.N., Rolfo, M., Ferraris, A.M., Gaetani, G.F., 1999. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *J Biol Chem*. 274, 13908–13914.

-Kryger, G., Harel, M., Giles, K., Toker, L., Velan, B., Lazar, A., Kronman, C., Barak, D., Ariel, N., Shafferman, A., Silman, I., Sussman, J.L., 2000. Structures of recombinant native and E202 Q mutant human acetylcholinesterase complexed with the snake venom toxin fasciculin-II. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr*. 56, 1385–1394.

-Kukreja, R.C., Hess, M.L., 1992. The oxygen free-radical system: from equations through membrane–protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc. Res.* 26, 641–655.

### L

-Ladner, J.E., Parsons, J.F., Rife, C.L., Gilliland, G.L., Armstrong, R.N., 2004. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanism of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry.* 43, 52–61.

-Li-Gen, L., Qian-Yu, L., Yang, Y., 2014. Naturally Occurring Homoisoflavonoids and Their Pharmacological Activities. *Planta Med.* 80, 1053-1066.

-Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Portnaya, I., Cogan, U., Said, O., Abu Saleh, K., Bomzon, A., 2005. Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *J.Ethnopharmacol.* 99, 43-47.

-Lyras, L., Cairns, N.J., Jenner, A., Jenner, P., Halliwell, B., 1997. An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 68, 2061–2069.

-Lockridge O., Masson P., 2000. Pesticides and susceptible populations: people with butyrylcholinesterase genetic variants maybe a trisk. *Neurotoxicology.* 21, 113–126.

Lotfipour, F., Nazemiyeh, H., Fathi-Azad, F., Garaei, N. S., Arami, S., Talat, F., Sadegpour, Hasanpour, R., 2008. Evaluation of antibacterial activities of some medicinal plants from North-West Iran, Iran *J. Basic Med. Sci.* 11 80-85.

### M

-Mack A., Robitzki A., 2000. The key role of butyrylcholinesterase during neurogenesis and neural disorders: an antisense-5'butyrylcholinesterase-DNA study. *Prog. Neurobiol.* 60, 607–628.

-Maire, R., 1958. Flore de l'Afrique du nord. Vol 5, ed. Paul le chevalier, Paris.

-Mahboubi, M., Taghizadeh, M., 2016. The antimicrobial and antioxidant activity of *Muscari neglectum* flower ethanol extract. *Herba Pol.*, 62 (4), 39-48.

-Manning, J.C., Goldblatt, P., Fay, M.F., 2004. A revised generic synopsis of *Hyacinthaceae* in sub-Saharan Africa, based on molecular evidence, including new combinations and the new tribe *Pseudoprosperae*. *Edinburgh Journal of Botany* 60, 533–568.

-Manning, J.C., Forest, F., Dion, S.D., Fay, M.F., Goldblatt, P. 2009. A molecular phylogeny and a revised classification of Ornithogaloideae (*Hyacinthaceae*) based on an analysis of four plastid DNA regions. *Taxon.* 58, 77–107.

-Marchot, P., Khelif, A., Ji, Y.H., Mansuelle, P., Bougis, P.E., 1993. Binding of 125I-fasciculinto rat brain acetylcholinesterase. The complex still binds diisopropylfluorophosphate. *J Biol Chem.* 268, 12458-12467.

-Martinsa, N., Barrosa, L., Santos-Buelgac, C., Ferreira, I.C.F.R., 2016. Antioxidant potential of two Apiaceae plant extracts: A comparative study focused on the phenolic composition. *J. Industrial Crops and Products.* 79, 188-194.

-Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C., 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 16, 577–586.

-Maulidiani, Abas, F., Khatib, A., Shaari, K., Laijs, N.H. 2014. Chemical characterization and antioxidant activity of three medicinal Apiaceae species. *J. Industrial Crops and Products.* 55, 238–247.

-Meerow, A.W., Fay M.F., Chase, M.W., Guy, C.L., Li, Q.B., Snijman, D.A., Yang, S.L., 2000. Phylogeny of the Amaryllidaceae: molecules and morphology. In Wilson KL, Morrison DA,

(eds.) Sydney, Monocots – systematics and evolution – Vol. 1 of proceedings of the second international conference on the comparative biology of the monocots: CSIRO, Melbourne, pp. 372–386.

-Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J., 2000. Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine : Folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *J. Fitoter.* 71, 278–307.

-Mezzetti, A., Lapenna, D., Romano, F., Costantini, F., Pierdomenico, S.D., DeCesare, D., Cuccurullo, F., Riario-Sforza, G., Zuliani, G., Fellin, R., 1996. Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *J Am Geriatr Soc.* 44, 823–827.

-Miliauskasa, G., Venskutonisa, P.R., van Beek, T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *J. Food Chemistry.* 85, 231–237.

-Morel, J.M., 2008. *Traité pratique de phytothérapie : remède d’hier pour médecine de demain*, ed. Granche, Paris.

-Mood, S.G., 2008. A contribution to some ethnobotanical aspects of Birjand flora (Iran). *Pakistan. J. Botany.* 40, 1783–1791.

-Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Domingueuez, J.M., Sineiro, J., Domingueuez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 72, 145–171.

-Mousnier, A., 2013. *Enquête ethnobotanique autour de la ville de la Souterraine (creuse)*. Université de Limoge.

-Musa MS, Abdelrasool FE, Elsheikh EA, Ahmed L, Mahmoud AE, Yagi SM, 2011. Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State, South- eastern Sudan. *J. Med. Plants Res.* 5: 4287–4297.

## N

-Nicolet, Y., Lockridge, O., Masson, P., Fontecilla-Camps, J.-C. & Nachon, F., 2003. Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *J. Biol. Chem.* 278, 41141–41147.

-Niles, R.M., 2004. Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer. *Mutat Res.* 555, 81–96.

-Niizuma, H., Nakamura, Y., Ozaki, T., Nakanishi, H., Ohira, M., Isogai E, Kageyama, H., Imaizumi, M., Nakagawara, A. 2006. Bcl-2 is a key regulator for the retinoic acid-induced apoptotic cell death in neuroblastoma. *Oncogene.* 25: 5046–5055.

-Normak, H.B., Normak, S., 2002. Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine.* 252, 91-106.

## P

-Parada, M., Carrió, E., Bonet, M.A., Vallès, J., 2009. Ethnobotany of the Alt Empordà region (Catalonia, Iberian Peninsula) Plants used in human traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.* 124, 609–618.

-Prakash, C., Phondani, A, Bhatt, E, Elsarrag, Y.A. Horr., 2015. Ethnobotanical magnitude towards sustainable utilization of wild foliage in Arabian Desert. *J. Ethnopharmacol.* doi:10.1016/j.jtcme.2015.03.003

-Persson, K., Wendelbo, P., 1979. *Bellevalia hyacinthoides*, a new name for *Strangweij aspicata* (Liliaceae). *Botaniska Notiser.* 132, 65-70.

-Pfosser, M., Speta, F., 1999. Phylogenetics of Hyacinthaceae based on plastid DNA sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 86, 852–875.

-Pieroni, A., 2000. Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the upper Lucca Province, Italy. *J. Ethnopharmacol.* 70, 235-273.

-Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., Chiarpotto, E., 2004. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem.* 11, 1163–1182.

-Punnam Chander, M., Kartick, C., Gangadhar, J., Vijayachari, P., 2014. Ethnomedicine and health care practices among Nicobarese of Car Nicobar An indigenous tribe of Andaman and Nicobar Islands. *J. Ethnopharmacol.* 158, 18–24.

### Q

-Quezel, P., Santa, S., 1962–1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, 2Tomes, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.

-Quezel, P., 1964. L'endémisme dans la flore de l'Algérie. *C.R. de la Soc. De Biogéogr.* 361, 137-149.

-Quezel, P., Santa, S., 1962–1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, 2Tomes, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.

-Quinn, D.M., 1987. Acetylcholinesterase - Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chem Rev.* 87, 955-979.

### R

-Radic, Z., Duran, R., Vellom, D.C., Li, Y., Cervenansky, C., Taylor, P., 1994. Site of fasciculin interaction with acetylcholinesterase. *J Biol Chem.* 269, 11233-11239.

-Radic, Z., Quinn, D.M., Vellom, D.C., Camp, S., Taylor, P., 1995. Allosteric control of acetylcholinesterase catalysis by fasciculin. *J. Biol Chem.* 270, 20391-20399.

-Radulović, N.S., Blagojević, P.D., Stojanović-Radić, Z.Z., Stojanović, N.M., 2013. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action, *Curr. Med. Chem.* 20, 932-952.

-Raveh, L., Grunwald, J., Marcus, D., Papier, Y., Cohen, E., Ashani, Y., 1993. *Biochem. Pharmacol.* 45,2465–2474.

-Rao, M.N.A., Kunchandy, E., 1990. Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm.* 26, 1231–1237.

-Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 9-10.

-Rice-Evans, C.A., Sampson, J., Bramley, P.M., Holloway, D.E., 1997. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo. *Free RadicRes.* 26, 381–398.

-Robinson, A., Huttley, G.A., Booth, H.S., Board, P.G., 2004. Modelling and bioinformatics studies of the human kappa class glutathione transferase predict a novel third transferase family with homology to prokaryotic 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerases. *Biochem J.* 379, 541–552.

-Rosenberry, T.L. 1975. Acetylcholinesterase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 43, 103-218.

-Rosenthal, J.P., 2006. Politics, culture, and governance in the development of prior informed consent in indigenous communities. *Curr.Anthropol.* 47, 119–142.

-Rudall, P.J., Stevenson, D.W., Linder, H.P., 1999. Structure and systematics of *Hanguana*, a monocotyledon of uncertain affinity. *Aust. Syst. Bot.* 12 (2), 311-330.

### S

-Saldanha, S. L., Elias, G., Rao, M.N.A., 1990. Oxygen radical scavenging activity of phenylbutenones and their correlation with anti-inflammatory activity. *Arzneim Forsch./Drug Res.* 40 (1), 89-91.

-Sparg, S.G., Light, M.E., Staden, J.V., 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.* 94, 219-243.

- Saleem, M., Nazir, M., Ali, M.S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaz, N., Jabbar, A., 2010. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural product reports*. 27, 238–254.
- Sharma, O.P., Kumar, N., Singh, B., Bhat, T.K., 2012. An improved method for thin layer chromatographic analysis of saponins. *Food Chem.* 132 (1), 671–674.
- Shaw, D., Graeme, L., Duez, P., Williamson, E., Chan, K., 2012. Pharmacovigilance of herbal medicine. *J. Ethnopharmacol.* 140 (3), 513–518.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., Dowd, C.A., 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* 360, 1–16.
- Sussman, J.L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., Silman, I., 1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine binding protein. *Science*. 253, 872–879.
- Stobiecki, M., 2000. Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. *Phytochemistry*. 54(3), 237–256.
- Szwajgier, D., 2013. Anticholinesterase activity of phenolic acids and their derivatives. *Naturforsch.* 68c, 125–132.

## T

- Tahira, B., Mushtaq, A., RsoolBakhsh, T., Niaz, M., Rukhsana, J., UrRehman, S., Shazia, S., Zafar, M., Ghulam, Y., 2015. Ethnobotany of medicinal plants in district Mastung of Balochistan province-Pakistan. *J. Ethnopharmacol.* 157, 79–89.
- Tai, A., Sawano, T., Yazama, F., Ito, H., 2011. Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays. *Biochim. Biophys. Acta.* 1810, 171–177.
- Telefo, P.B., Moundipa, P.F., Tchouanguep, F.M., 2004. Inductive effects of the leaf mixture extract of *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Dicliptera verticillata* and *Hibiscus macranthus* on invitro production of oestradiol. *J. Ethnopharmacol.* 90, 225–230.
- Telli, A., Esnault, M.A., Ould El Hadj Khelil, A., 2015. An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in southeastern Algeria (Ouargla province). *J. Arid environments.* 127, 82–92.
- Terpinc, P., Ceh B., Ulrih, N. P., Abramovi, H., 2012. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial crops and products.* 39, 210–217.
- The plant list, 2016. The plant list. <http://www.theplantlist.org> (consulté le 08 Mars 2016)
- Toshniwal, P.K., Zarling, E.J., 1992. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Neurochem Res.* 17, 205–207.
- Trotter, R.T., Logan, M.H., 1986. Informant consensus: a new approach for identifying potentially effective medicinal plants, in: Etkin, N.L. (Eds.), *Plants in Indigenous Medicine and Diet*. Redgrave Publishing Company, Bedford Hills, New York, pp. 91–112.
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., Polat, G. (2007) Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules.* 12:484–496.
- Turkoglu, A., Emin, M., Mercan, N., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chem.* 101, 267–273.
- Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M.L., Venturella, G., La Bella, S., 2014a. Ethnobotanical investigation on wild medicinal plants in the Monti Sicani Regional Park (Sicily, Italy). *J. Ethnopharmacol.* 153, 568–586.

-Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M.L., Venturella, G., La Bella, S., 2014b. Popular uses of wild plant species for medicinal purposes in the Nebrodi Regional Park (North-Eastern Sicily, Italy). *J. Ethnopharmacol.* 157, 21–37.

### V

-Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 160, 1–40.

-Vernon, R.O., Singleton, L., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of Total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Met. Enzym.* 299, 152–178.

### W

-Wagner H., Blatt S., 1996. Plant drug analysis, a thin chromatography atlas, 2<sup>nd</sup>ed. Springer-verlag, Berlin.

-Wall, D.B., Finch, J.W., Cohen, S.A., 2004. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18: 1482.

-Wang, M.Y., Dhingra, K., Hittelman, W.N., Liehr, J.G., deAndrade, M., Li, D.H., 1996. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde–DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 5, 705–710.

-Watkins, P. B., Zimmerman, H. J., Knapp, M. J., Gracon, S. I., Lewis, K. W., 2015. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease, *J. Am. Med. Assoc.* 271, (13), 992–998.

-Wendelbo, P., 1980. Notes on *Hyacinthus* and *Bellevalia* (Liliaceae) in Turkey and Iran. Notes from the Royal Botanic Gardens Edinburgh. 38, 423-434.

-White, E., Shannon, J.S., Patterson, R.E., 1997. Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 6, 769–774.

-Werner, E., 2011. Analyse du métabolome par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse : application à la recherche de biomarqueurs indirects d'induction enzymatique. Université Paris sud 11. Paris.

-Whitehouse, P.J., Price, D.L., Struble, R.G., Clark, A.W., Coyle, J.T., Delon, M.R., 1982. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science.* 215, 1237-1239.

-Wolfender, J.L., Waridel, P., Ndjoko, K., Hobby, K.R., Major, H.J., Hostettmann K., 2000. Evaluation of Q-TOFMS/ MS and multiple stage IT-MSn for the dereplication of flavonoids and related compounds in crude plant extracts. *Analysis.* 28(10), 895-906.

-Wu L., Hao H., Wang G., 2012. LC/MS based tools and strategies on qualitative and quantitative analysis of herbal components in complex matrixes. *Cur. Drug Metab.* 13, 1251-1265.

### Y

-Yemele, M.D., Telefo, P.B., Lienou, L.L., Tagne, S.R., Fodouop, C.S.P., Goka, C.S., Lemfack, M.C., Moundipa, F.P., 2015. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for pregnant women's health conditions in Menoua division-West Cameroon. *J. Ethnopharmacol.* 160, 14–31.

-Yilmaz, M.A., Ertas, A., Yener, I. Akdeniz, M., Çakir, O., Altun, M., Demirtas, I., Boga, M., Temel, H., 2018. A comprehensive LC–MS/MS method validation for the quantitative investigation of 37 fingerprint phytochemicals in *Achillea* species: A detailed examination of *A. coarctata* and *A. monocephala*. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 154, 413-424.

**Z**

-Zhang, L., Kong, Y., Wu, D., Zhang, H., Wu, J., Chen, J., Ding, J., Hu, L., Jiang, H., Shen, X., 2008. Three flavonoids targeting the  $\beta$ -hydroxyacyl-acyl carrier protein dehydratase from *Helicobacter pylori*: Crystal structure characterization with enzymatic inhibition assay. *Protein Sci.* 17(11), 1971-1978.

-Zelko, I.N., Mariani, T.J., Folz, R.J., 2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 33,337–349.

# **ANNEXES**



## Résultats de l'activité antioxydante

**Tableau 1. Activité antioxydante mesurée pour le test CUPRAC**

Extrait	Absorbances des extraits dans le test CUPRAC <sup>a</sup>							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	A <sub>0,50</sub> (µg/mL)
Extrait brut	0,14±0,00	0,15±0,00	0,19±0,00	0,28±0,00	0,40±0,01	0,75±0,00	1,01±0,08	231,24±4,35
extrait Butanolique	0,19±0,03	0,29±0,01	0,55±0,00	0,66±0,00	1,26±0,00	1,98±0,03	2,94±0,10	45,17 ± 0,04
extrait Chloroformique	0,20±0,01	0,34±0,00	0,44±0,00	0,92±0,01	1,75±0,03	2,88±0,13	3,20±0,02	50,24±0,14
Extrait éthyle acétate	0,28±0,01	0,70±0,02	1,09±0,02	2,89±0,15	3,84±0,04	4,25±0,12	4,47±0,32	20,16±0,32
Partie aérienne	0,19±0,01	0,23±0,00	0,32±0,01	0,50±0,01	0,78±0,01	1,48±0,00	2,53±0,02	105,08±1,12
BHA <sup>b</sup>	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,35±0,20	3,58±0,42	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHT <sup>b</sup>	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	9,62±0,87

**Tableau 2. Activité antioxydante mesurée pour le test ABTS**

Extrait	% d'inhibition des extraits du radical ABTS <sup>a</sup>							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
Extrait brut	11,34±1,73	18,64±0,33	25,47±0,82	50,68±0,30	78,08±2,22	82,59±0,08	91,94±0,16	101,09 ± 3,22
extrait Butanolique	37,03±0,95	61,13±2,25	84,03±0,61	91,17±0,00	91,97±0,53	91,57±0,17	91,17±0,75	20,85±1,07
extrait Chloroformique	12,57±1,30	33,53±1,04	61,68±0,52	91,82±0,35	92,81±0,26	92,96±0,00	92,12±0,38	40,20±1,75
Extrait éthyle acétate	63,72±0,92	90,26±0,23	92,22±0,31	92,94±0,10	92,77±0,26	92,94±0,20	92,49±0,43	5,70±0,07
Partie aérienne	13,30±0,46	21,62±0,55	32,22±0,09	50,77±0,09	78,80±0,92	91,47±0,24	92,10±0,18	95,64 ± 1,92
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0,39	1,29±0,30
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1,81±0,10

## Annexes

**Tableau 3. Activité antioxydante mesurée pour le test du superoxyde DMSO**

Extrait	% d'Inhibition des extraits du radical superoxyde DMSO alcalin <sup>a</sup>							
	0.781	1.562	3.125	6.25	12.5	25	50	IC 50 µg/mL
extrait Butanolique	11,14±3,62	11,95±0,61	13,31±1,75	40,05±2,26	57,09±0,14	58,84±0,79	63,40±0,73	10,0± 0,08
Extrait éthyle acétate	15,60±0,85	32,16±5,11	40,65±0,00	63,73±1,48	62,92±1,12	83,29±0,85	87,90±1,23	5,59±0,22

**Tableau 3. activité antioxydante mesurée pour le test du superoxyde DMSO (suite)**

Extrait	% d'Inhibition des extraits du radical superoxyde DMSO alcalin <sup>a</sup>							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
Extrait brut	27,35±1,18	47,07±0,94	61,39±0,76	75,51±0,29	83,04±0,06	88,37±0,06	90,62±0,89	47,08±1,76
Parties aériennes	12,95±3,28	22,13±1,11	41,39±0,63	47,51±2,55	58,86±1,92	63,67±0,00	72,12±1,14	110,74±7,36

**Tableau 3. Activité antioxydante mesurée pour le test du superoxyde DMSO (suite)**

Extracts	% d'Inhibition des extraits du radical superoxyde DMSO alcalin <sup>a</sup>									
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	IC 50 µg/mL
extrait Chloroformique	6,43±4,59	19,26±2,75	25,39±1,98	52,64±1,29	69,77±1,39	79,59±0,31	82,59±0,15	85,58±0,17	88,46±1,23	20,1±1,25
Acide ascorbique	82,56±1,22	83,20±1,12	83,36±1,32	84,43±2,96	83,59±3,88	84,46±3,43	84,59±1,85	84,34±2,34	88,30±0,35	0.5 ± 0.004
α-tocophérol	55,28±2,11	56,34±1,26	57,48±2,61	69,83±0,91	74,34±1,33	79,89±2,16	82,42±1,16	82,48±2,18	83,97±1,09	1.33 ± 0.04

## Annexes

**Tableau 4.** Activité antioxydante mesurée pour le test du DPPH scavenging

Extrait	% d'Inhibition des extraits du radical DPPH <sup>a</sup>							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
Extrait brut	2,83±0,42	5,18±0,10	11,21±0,00	13,02±0,00	46,22±0,31	60,21±0,21	78,18±0,52	281,33 ± 2,35
extrait Butanolique	5,85±0,52	19,64±1,20	48,81±1,31	63,94±1,25	75,41±0,94	76,55±0,28	74,80±0,55	84,60 ± 1,62
extrait Chloroformique	17,37±8,88	38,91±15,69	53,99±23,07	68,76±33,76	70,24±26,83	77,90±15,23	78,69±15,15	52,53±3,39
Extrait éthyle acétate	23,39±2,53	59,27±0,51	80,85±2,03	84,80±0,76	84,02±0,17	84,65±1,91	85,38±0,50	18,92±0,56
Partie aérienne	-2,38±0,50	0,58±0,40	7,42±0,00	19,43±0,30	58,63±0,61	63,61±0,50	69,95±1,61	150,17 ± 10,25
BHA <sup>b</sup>	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6,14± 0,41
BHT <sup>b</sup>	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	12,99±0,41
α-Tocopherol <sup>b</sup>	37,21±1,82	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13,02±5,17

## Annexes

Tableau 5. Activité antiacétylcholinestérase de l'extrait acétate d'éthyle

Extrait	Activité antiacétylcholinestérase							
	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	IC50
Ethyle acetate extract	34,48±1.44	42,89±3,42	75,29±1,44	79,65±1,26	88,06±2,34	90,83±1.34	94.70±1.26	7,09±0.04
Galantamine	35,93±2,28	43,77±0.00	68,50±0,31	80,69±0,41	85,78±1,63	91,80±0,20	94,77±0,34	6,27±1.15

## Résultats de l'activité antibactérienne des extraits actifs

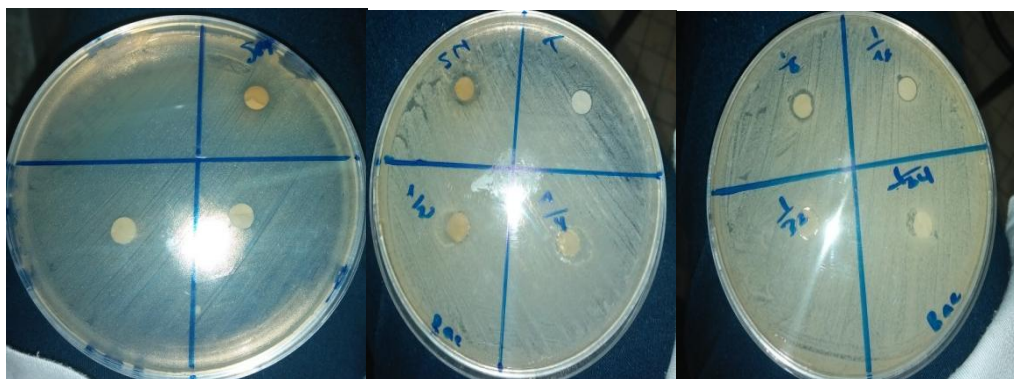


Photo de l'action de l'extrait CHCl<sub>3</sub> sur *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

Photo de l'action de l'extrait CHCl<sub>3</sub> sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633



Photo de l'action de l'extrait AcOEt sur *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

Photo de l'action de l'extrait brut sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

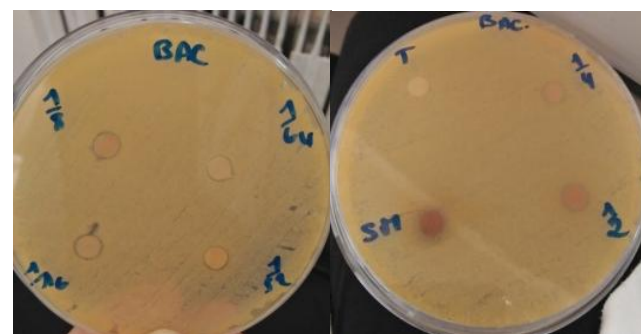
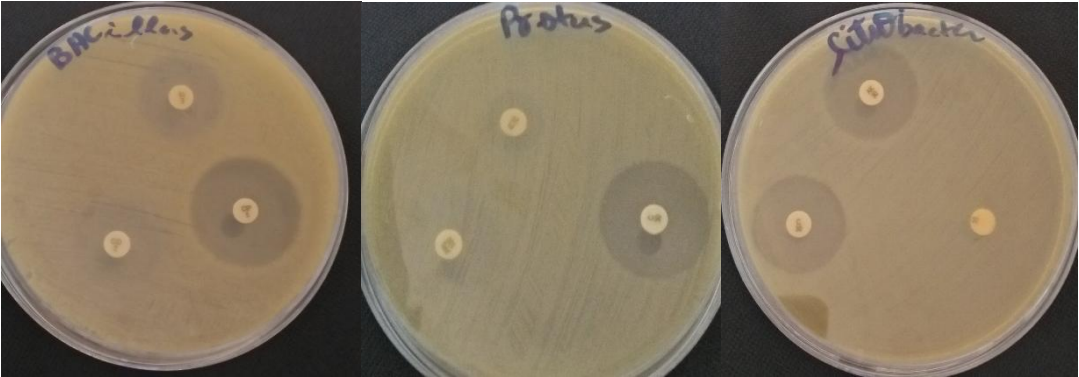
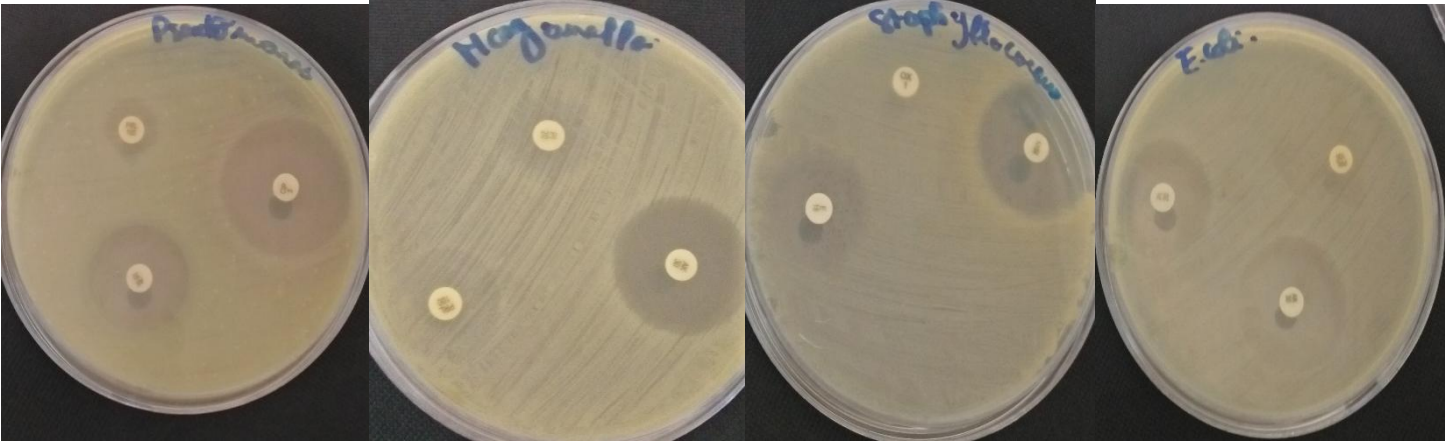


Photo de l'action de l'extrait AcOEt sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Annexes

---



## Résumé

---

La situation géographique privilégiée de l'Algérie lui confère une grande richesse floristique qui représente un atout pour la phytochimie, en outre jusqu'à nos jours la population Algérienne a recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes pour se soigner.

Le présent travail se divise en deux volets, le premier consacré à une enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila et le deuxième comporte l'étude phytochimique de la plante endémique Nord-Africaine *Bellevalia mauritanica* Pomel, ainsi que l'évaluation de ses activités biologiques *in vitro*.

L'investigation ethnobotanique de la région de Constantine et Mila, nous a permis d'obtenir les résultats suivants : sur 102 plantes citées, 28 nouvelles espèces, 31 plantes communes avec 151 nouvelles applications thérapeutiques, en comparaison avec d'autres régions en Algérie ont été mentionnés et 12 nouvelles espèces y compris une plante endémique *Zygophyllum cornutum* Coss., 75 plantes connues avec 369 nouveaux usages médicaux, en comparaison avec d'autres régions du bassin méditerranéen.

L'étude phytochimique de la plante *Bellevalia mauritanica* Pomel par une chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse hybride à trappe d'ions et en temps de vol (LC-MS-IT-TOF) a indiqué la présence de 91 composés dans les différentes phases de l'extrait brut de la partie sous terraine et une méthode validée de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), utilisant 37 standards a révélé la teneur de la plante en acides phénoliques plutôt qu'en flavonoïdes, en effet la phase AcOEt contient l'acide caféique (1240,7 µg/g d'extrait) et la phase CHCl<sub>3</sub> contient la vanilline (2048,5 µg/g d'extrait) comme composés majoritaires, ainsi que l'évaluation de ses activités antioxydantes, anticholinestérase et antibactérienne *in vitro* a montré que parmi les extraits testés, la phase AcOEt présente une bonne activité antioxydante, notamment dans les tests ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et l'anion superoxyde DMSO (diméthylsulfoxyde) alcalin, une inhibition considérable de l'acétylcholinestérase et un effet antibactérien modéré.

**Mots clés :** Ethnobotanique ; *Bellevalia mauritanica* Pomel ; LC-MS/MS ; HPLC-MS-IT-TOF, activités biologiques.

## Abstract

---

The privileged geographical situation of Algeria confers a great floristic richness which represents an asset for phytochemistry, moreover until our days the Algerian population resorts to the traditional practices using plants to cure themselves.

The present work is divided into two parts, the first one devoted to an ethnobotanical investigation on the medicinal plants used in the region of Constantine and Mila and the second one includes the phytochemical study of the endemic North African plant *Bellevalia mauritanica* Pomel, as well as the evaluation of its biological activities *in vitro*.

The ethnobotanical investigation of the region of Constantine and Mila, allowed us to obtain the following results: out of 102 plants mentioned, 28 new species, 31 common plants with 151 new therapeutic applications, in comparison with other regions in Algeria were mentioned and 12 new species including an endemic plant *Zygophyllum cornutum* Coss., 75 known plants with 369 new medicinal uses, in comparison with other regions of the Mediterranean basin.

The phytochemical study of *Bellevalia mauritanica* Pomel by liquid chromatography coupled to a hybrid ion trap and time-of-flight mass spectrometer (LC-MS-IT-TOF) indicated the presence of 91 compounds in the different phases of the crude extract of the underground part and a validated method of liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), using 37 standards revealed the content of phenolic acids rather than flavonoids, in fact the AcOEt phase contains caffeic acid (1240.7 µg/g extract) and the CHCl<sub>3</sub> phase contains vanillin (2048.5 µg/g extract) in high amounts, as well as the evaluation of its Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial *in vitro* activities showed that among the tested extracts, the AcOEt phase shows good antioxidant activity, especially in ABTS<sup>•+</sup> (2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic), DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and DMSO (dimethylsulfoxide) alkaline superoxide anion, considerable inhibition of acetylcholinesterase and moderate antibacterial effect.

**Keywords:** Ethnobotany; *Bellevalia mauritanica* Pomel; LC-MS/MS; HPLC-MS-IT-TOF, biological activities.

الموقع الجغرافي الممتاز للجزائر أعطها ميزة التنوع النباتي الغني خاصة من اجل الدراسات الفيتوكيميائية بالإضافة الى التداوي بالأعشاب المنتشر في المنطقة الى يومنا هذا.

هذا العمل ينقسم إلى جزئين الأول كرسّ لتحرّي النباتات الطبية المستعملة في قسنطينة وميلة و الثاني يتضمن الدراسة الفيتوكيميائية للنبته المستوطنة *Bellevalia mauritanica* Pomel بالإضافة إلى تقييم فعاليتها البيولوجية *in Vitro*

التحقيق الإثنوبوتاني على مستوى منطقة قسنطينة وميلة، سمح لنا بالتحصل على النتائج التالية:  
من بين 102 نبتة مذكورة، 28 نوع نباتي جديد، 31 نبتة مشتركة مع 151 استعمال طبي جديد و 12 نوع نباتي جديد من بينها النبتة المستوطنة *Zygophyllum cornotum* Coss. بالإضافة إلى 369 استعمال طبي لـ 75 نبتة معروفة، وهذا بالمقارنة مع مناطق أخرى في حوض المتوسط.

الدراسة الفيتوكيميائية للنبته المستوطنة *Bellevalia mauritanica* Pomel، بطريقة الكروماتوغرافية المتصلة بقياس طيف الكتلة المثبتة (LC-MS/MS)، التي استعمل فيها 37 مركب مرجعي و التحري النوعي باستعمال الكروماتوغرافية المتصلة بقياس طيف الكتلة بزمن الطيران و مصيدة الايونات (HPLC-MS-IT-TOF)، أشار إلى وجود 91 مكون في مختلف المستخلصات بالإضافة إلى تقييم فعاليتها البيولوجية: المضادة للأكسدة، المثبته للأسيتيل كولين استيراز وكذا فعاليتها المضادة للبكتيريا، بينت أنه من بين المستخلصات المختبرة، مستخلص EtOAc المشتق من المستخلص الخام للجزء السفلي، لديه فعالية في الاختبارات التالية: DPPH<sup>•</sup>، ABTS<sup>++</sup> و DMSO القاعدي، تثبيط جيد أيضا للأسيتيل كولين استيراز وكذا فعالية مضادة للبكتيريا متوسطة، بالإضافة إلى احتوائها على الاحماض الفينولية أكثر من احتوائها على لفلافونويدات حيث أن: مستخلص الـ EtOAc يحتوي على حمض الكافيك (1240,7µغ/غ) و مستخلص CHCl<sub>3</sub> يحتوي على الفانيلين ( 2048,5 µغ/غ).

#### الكلمات المفتاحية:

الإثنوبوتاني، *Bellevalia mauritanica* Pomel، LC-MS/MS، HPLC-MS-IT-TOF، الفعالية البيولوجية.





## Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria)



Rayene Ouelbani<sup>1</sup>, Souheir Bensari<sup>1</sup>, Toma Nardjes Mouas<sup>1,\*</sup>, Douadi Khelifi<sup>1,\*</sup>

Laboratory of Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales GBBV, Faculty of Nature and Life Sciences, University Frères Mentouri Constantine1, Algeria

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 2 May 2016

Received in revised form

1 August 2016

Accepted 12 August 2016

Available online 31 August 2016

#### Keywords:

Medicinal plants

Mediterranean ethnomedicine

Constantine

Mila

Quantitative indices

#### Chemical compounds studied in this article:

Rhoeagenine (PubChem CID: 609840)  
 Isorhoeadine (PubChem CID: 12304371)  
 Chrysin (PubChem CID: 5281607)  
 Vitexin (PubChem CID: 5280441)  
 Isovitexin (PubChem CID: 25202038)  
 Kaempferol (PubChem CID: 5280863)  
 Harman (PubChem CID: 5281404)  
 Harmine (PubChem CID: 5280953)  
 Harmaline (PubChem CID: 5280951)  
 Palmitic Acid (PubChem CID: 985)  
 Apigenin (PubChem CID: 5280443)  
 Myristic Acid (PubChem CID: 11005)  
 Hordatinine A (PubChem CID: 45485025)  
 Hordatinine B (PubChem CID: 7219363)  
 Aloe-emodin (PubChem CID: 10207)  
 Emodin (PubChem CID: 3220)  
 Chrysophanol (PubChem CID: 10208)  
 Physcion (PubChem CID: 10639)  
 Germacrene D (PubChem CID: 5317570)  
 Germacrene A (PubChem CID: 9548705)  
 Eudesm-11-en-4a-ol (PubChem CID: 91747515)  
 Neoline (PubChem CID: 120682)  
 Senbusine A (PubChem CID: 100930481)  
 Ursolic acid (PubChem CID: 64945)  
 Oleanolic acid (PubChem CID: 10494)  
 Chlorogenic acid (PubChem CID: 1794427)  
 Syringic acid (PubChem CID: 10742)  
 2-Nonanone (PubChem CID: 13187)  
 2-Undecanone (PubChem CID: 8163)  
 1-methyl-4-methoxy-2-quinolone

### ABSTRACT

**Ethno-pharmacological relevance:** Constantine and Mila regions have been investigated in an ethnobotanical study for the first time. A total of 102 medicinal plants have been cited to treat human ailments. Twenty-eight new species of 31 common plants with 151 new therapeutic applications and 12 new cited species including one endemic specie *Zygophyllum cornutum* Coss were found as compared to other Algerian regions. In addition, to the best of our knowledge, 369 new medicinal uses of 75 known plants, were reported for the first time in the Mediterranean basin.

**Aim of the study:** This study is aimed at contributing to safeguard world cultural heritage and document ethnomedicinal uses of plants in Algeria and the Mediterranean basin; data on the national and global uses in the world were obtained to extract new potential species for further phytochemical and clinical investigations.

**Materials and methods:** The survey was carried out in two cities in the northeast of Algeria: Constantine and Mila. It was based on semi-structured interviews of 79 local informants. Data were analyzed using quantitative indices, namely, informant consensus factor, fidelity level (FL), use value (UV), and relative frequency citation (RFC), to evaluate the reliability and richness of herbal knowledge in the region.

**Results:** The interviewed persons used 102 plant species belonging to 90 genera and distributed among 53 families, represented mainly by Lamiaceae, Apiaceae, and Asteraceae (30%, 13%, and 10%, respectively), which were used to treat 14 ailment categories. The category of most frequent ailments (16%) was digestive disorders (diarrhea, constipation, and stomach bloating). The highest RFC was found for *Origanum glandulosum* Desf. With regard to the fidelity level, a higher FL was found for *Tilia cordata* Mill. (100%), followed by *Artemisia herba alba* Asso. with an FL of 95.74% and *Punica granatum* L. with an FL of 93.09% to treat gastrointestinal system diseases, and *Aloe* sp. L. with an FL of 96.67% for skin diseases. The highest UV was found for *Origanum glandulosum* Desf. (2.280). Moreover, new medicinal uses were recorded for the first time in Algeria and Mediterranean regions.

**Conclusion:** The present study has highlighted the rich herbal knowledge about newfound medicinal plants and their new uses in the Mediterranean region, which could be useful not only in facilitating other studies such as phytochemical and pharmacological investigations and upgrading the sources of biomolecules beneficial to people but also in reopening discussion on pharmacovigilance in herbal medicine as an imperative requirement for local authorities.

© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [rayene.ouelbani@gmail.com](mailto:rayene.ouelbani@gmail.com) (R. Ouelbani), [souheir.ben@gmail.com](mailto:souheir.ben@gmail.com) (S. Bensari), [mouas\\_nardjes@yahoo.fr](mailto:mouas_nardjes@yahoo.fr) (T.N. Mouas), [Dkhalifi@yahoo.fr](mailto:Dkhalifi@yahoo.fr) (D. Khelifi).

<sup>1</sup> All authors contributed equally.

(PubChem CID: 182073)  
 Daphnoretin (PubChem CID: 5281406)  
 Isoadiantone (PubChem CID: 3041569)  
 Linalool (PubChem CID: 6549)  
 Neryl acetate (PubChem CID: 1549025)  
 Capric acid (PubChem CID: 2969)  
 Undecyl alcohol (PubChem CID: 8184)  
 Tridecanoic acid (PubChem CID: 12530)  
 Coriandrin (PubChem CID: 119586)  
 Dihydrocoriandrin (PubChem CID: 14134312)  
 Coriandrone A (PubChem CID: 15126295)  
 Coriandrone B (PubChem CID: 15126296)  
 Coriandrone C (PubChem CID: 101995280)  
 Coriandrone D (PubChem CID: 101995281)  
 Coriandrone E (PubChem CID: 101995282)  
 Caffeic acid (PubChem CID: 689043)  
 Glycitin (PubChem CID: 187808)  
 Limonene (PubChem CID: 22311)  
*p*-Cymen-8-ol (PubChem CID: 14529)  
 Terpinen-4-ol (PubChem CID: 11230)  
*cis*-Calamenene (PubChem CID: 6429077)  
*trans*-Bejarol (PubChem CID: 6429169)  
*cis*-Bejarol (PubChem CID: 6429172)  
 Quercetin (PubChem CID: 5280343)  
 Kaempferol (PubChem CID: 5280863)  
 Betanin (PubChem CID: 11953901)  
 Luteolin (PubChem CID: 5280445)  
 Apigenin (PubChem CID: 5280443)  
 Colchicine (PubChem CID: 6167)  
 Cosmosiin (PubChem CID: 5280704)  
 Hypolaetin-8-glucoside (PubChem CID: 5318255)  
*p*-Coumaric acid (PubChem CID: 637542)  
 Safranal (PubChem CID: 61041)  
 Dihydroeugenol (PubChem CID: 17739)  
 Thymoquinone (PubChem CID: 10281)  
 Eugenol (PubChem CID: 3314)  
 Thymol (PubChem CID: 6989)  
 Carvacrol (PubChem CID: 10364)  
 Cinnamtannin B1 (PubChem CID: 475277)  
 $\alpha$ -Pinene (PubChem CID: 6654)  
 Paclitaxel (PubChem CID: 36314)

## 1. Introduction

Over the centuries, human traditions have developed the knowledge and use of medicinal plants (Fakchich and Elachouri, 2014). Presently, and despite the progress achieved in medicine, the majority of population, especially in developing countries, refer to herbal traditional practices to cure themselves, but this knowledge that belongs essentially to traditional practitioners is still transmitted orally (Baba Aissa, 1991; Boudjelal et al., 2013); thus, this herbal traditional practice is at risk of disappearing without being safeguarded (Boudjelal et al., 2013; Magwede et al., 2014; Benarba et al., 2015). Ethnobotany is defined as the study of relationships between humans and plants; several active compounds used in modern medicine are derived from ethnobotanical information, which is mostly based on popular and traditional medicinal knowledge (Boudjelal et al., 2013). In Algeria, several ethnopharmacological surveys were recently carried out in some areas such as the central Sahara and central part of the North and Northwest Algeria (Gonzalez-Tejero et al., 2008; Hammiche and Maiza, 2006; Boudjelal et al., 2013; Sarri et al., 2014; Benarba et al., 2015), while such surveys are almost or completely lacking in other regions. In this context, we have chosen as a study area the two cities of Constantine and Mila, which in our knowledge have never been ethnobotanically explored. Traditional herbal medicine in both cities is much used by the population who believes in their efficacy or do not have enough money to afford modern medicine, or it is simply that they prefer this kind of soft medicine with less side effects. Moreover, these traditional practices in Algeria are very ancient, and historically, Algeria and in particular the two cities of Constantine and Mila were in

contact with many civilizations (Berber, Greco-Roman, Arab, Ottoman, and French), where the use of plants was by nature essential and of prime necessity for maintaining health. Such use allowed the development of the knowledge of medicinal plants through ideas inherited from antiquity. Travelers also have been significantly involved in the transfer of knowledge owing to the contact between the Mediterranean countries and those of the Far East. Therefore, the documentation of traditional use of medicinal plants (Benarba et al., 2015) in a region contributes in one part to the knowledge of plant biodiversity and in the second part to using this knowledge for other social and scientific interventions. The aim of this study was also to document ethnomedicinal uses of plants in the region for several purposes: establish the actual herbal knowledge in the region, safeguard cultural heritage as recognized by the UNESCO in 2003 (Pieroni et al., 2006), and analyze ethnobotanical information using quantitative indices of informant consensus factor (ICF), fidelity level (FL), use value (UV), and relative frequency citation (RFC), and then compare all these data with those of other Mediterranean regions to enrich databases and to exploit them for further scientific and social investigations.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Interview

The survey was conducted on 45 herbalists and 34 persons from the local population (60 years old and above) belonging to the two cities. Informants were made aware of the scope of the study and

prior informed consent was requested verbally (Rosenthal, 2006). The interview was conducted without time limit or pressure to allow the informants to answer questions naturally (Akerreta et al., 2007), following the ISE code of ethics ([www.ethnobiology.net/ethics.php](http://www.ethnobiology.net/ethics.php)). This work was performed using a pre-prepared questionnaire on papers, in which the first part was dedicated to personal information: gender, age, educational level (primary, secondary, academic), while the second one gathered information concerning medicinal plants such as vernacular name (dialectal Arabic or Tamazight or literary Arabic), the parts used, preparation method, and therapeutic uses by asking them the following questions:

- Which plant do you know, use, or have used for medicinal purposes?
- How do you use these plants (plant part, preparation, mode of administration)?
- Where did you get the plant?
- What is, in your opinion, the efficacy of these plants?
- Did this plant have side effects?

The language used during the interview was Arabic or French, depending on the educational and cultural level of the interrogated person. With regard to the place, people from the local population were interviewed at their homes and the herbalist at their local places.

The survey conducted on medicinal uses was valid only if the same plant was cited at least three times by different persons independently (Al-Qura'n, 2009; Boudjelal et al., 2013).

The recorded specimens were showed to herbalists and then identified by experimenting botanists in our laboratory, where vouchers were deposited (Table 2).

For identification and recording botanical taxa (scientific, vernacular common names, and synonyms), we used these books as standard botanical references on Algerian flora:

- *Flore de l'Algérie, Ancienne Flore d'Alger Transformée* (Battandier and Trabut, 1888, 1893).
- *Index Synonymique et Bibliographique de la Flore d'Afrique du Nord* (Dobignard and Chatelain, 2010, 2011, 2012).

- *Les Plantes Médicinales en Algérie* (Kaddem, 1990).
- *Medicinal Plants in Algeria* (Baba Aissa, 1991).
- *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales* (Quezel and Santa, 1962–1963).

We also used the online database [WWW.theplantlist.org](http://WWW.theplantlist.org) for checking the scientific names and synonyms of plants.

## 2.2. Study area

Constantine city is situated in the high plateau in the northeast of Algeria at 637 m altitude (Fig. 1) between the coast and Sahara oasis; it covers a surface area of 22,970 ha that is partitioned into 12 sectors. Situated at 87 km off the Mediterranean coast, the city enjoys a continental climate: cold and humid in winter and hot and dry in summer. It is an important crossroad, linking the high plateau to the coast ([www.andi.dz/PDF/monographies/Constantine.pdf](http://www.andi.dz/PDF/monographies/Constantine.pdf)). Mila city is close to Constantine at a distance of only 50 km; it is a natural continuation of the Constantine region domain (Fig. 1) at 464 m of altitude and 33 km from the Mediterranean Sea. It is also in the eastern part of the Atlas Tell. It is governed by three microclimates: humid in northern mountain reliefs and median part, semi-dry to sub-humid in the median part of the wilaya, and semi-dry in the high plains ([www.andi.dz/PDF/monographies/Mila.pdf](http://www.andi.dz/PDF/monographies/Mila.pdf)). These two cities are characterized by a very varied flora, which attracted the early attention of botanists such as Hebenstreit, Poirer, and Shaw (Andrien, 2013). But it is post the French occupation that the flora was studied in details by Bové (1837), Durrieu de Maisonneuve (1842), Battandier and Trabut (1888), Maire (1958) and Quezel and Santa (1962), leaving us with the first specialized works that are being used as botanical references to date. On the basis of this, more than 218 species of different vegetable families such as Liliaceae, Labiæae, Rosaceae, and Oléaceae have been counted, including four endemic species for Constantine (*Silene cirtensis*, *Crepis patula*, *Bellevalia mauritanica*, and *Iris unguicularis*) and one species for Mila (*Erodium cheilanthifoli*) (Quezel and Santa, 1962–1963). On the territory of the two wilayas, there is an important area of forests that covers 13% of the total surface area (27,566 ha) of Constantine and 9.68% of

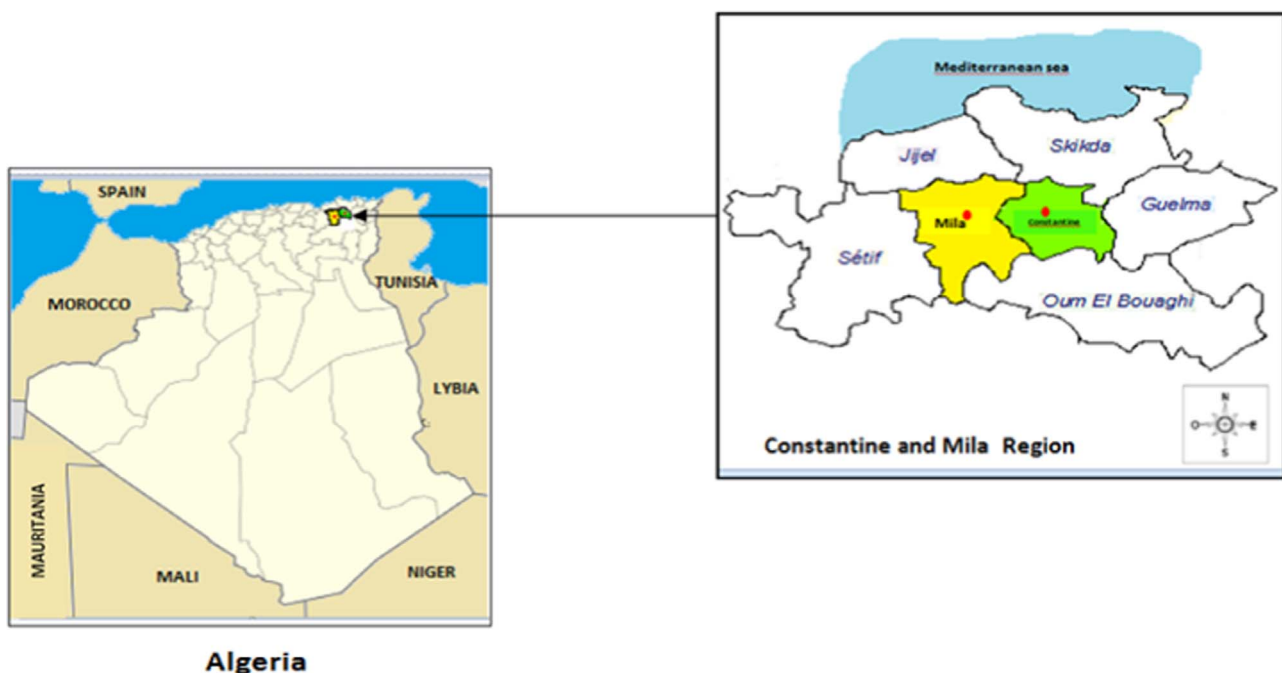


Fig. 1. Location of the two study areas (Constantine and Mila, Northeast Algeria).

the total surface area (36.674, 7 ha) of Mila. These two forest heritages contain varied species: pine of Aleppo (*Pinus halepensis* Mill.), Eucalyptus (*Eucalyptus* sp.), Cork oak (*Quercus suber* L.), and Holm oak (*Quercus ilex* L.) as well as the species introduced such as *Pinus nigra* sp, *Eucalyptus globulus*, and *Cupressus arizonica*.

The two areas studied possess remarkable economic potentialities: agriculture with a predominance of cereal culture; the rest is partitioned between feeds, dried vegetables, and arboriculture, supported by considerable water resources: pluviometry reaching up to 506 mm to 1067 mm/year (<http://climate-data.org/>). This water potential was strengthened by the building of the Beni-Hroun's dam in Mila's wilaya. These two cities also benefit from important mechanical, construction material, food processing, and pharmaceutical industries as well as breeding and animal production. With regard to tourist potential, these cities are linked to archeological, historical, and cultural heritage: numidian graves, roman ruins, ottoman castles and mosques, and traditional thermal springs with considerable therapeutic virtues – Tleghma and Beni haroun hammam, Rhumel's gorges ([www.interieur.gov.dz](http://www.interieur.gov.dz)).

### 2.3. Data analysis

The recorded data were transferred in our own internally prepared database using common software (Excel) and then analyzed and compared with several national and international ethnopharmacological references (articles, books, reviews in electronic databases: Science Direct, PubMed, and Google Scholar) to extract similarities, differences, and new uses of unknown or famous medicinal plants. The calculation of the following quantitative indices was very helpful for interpreting this entire information.

#### 2.3.1. Informant consensus factor (ICF)

ICF is calculated with the following formula (Trotter and Logan, 1986; Heinrich et al., 1998):

$$ICF = (N_{ur} - N_t) / (N_{ur} - 1),$$

where  $N_{ur}$  refers to the total number of use reports for each ailment category and  $N_t$  is the number of taxa used in that category. This value indicates the extent of homogeneity in the information between the informants. ICF values will be low (near 0) if plants are chosen randomly or if informants do not exchange information about their use. The values will be high (close to 1) if there is a well-defined selection criterion in the community and/or if information is exchanged between informants.

#### 2.3.2. Fidelity level (FL)

FL index was calculated using the following formula (Friedman et al., 1986):

$$Fl(\%) = (N_p / N \times 100),$$

where  $N_p$  refers to the number of informants citing the use of the plant for a particular ailment category and  $N$  is the total number of informants citing the plant for any ailment category. A high FL value indicates high frequency of use of the plant species for treating a particular ailment category by the informants of the studied area. It is interesting to determine the most ideal species used in the treatment of a specific ailment category (Musa et al., 2011).

#### 2.3.3. Frequency citation (FC) and relative frequency citation (RFC)

The FC was obtained using the following formula:  $FC = (\text{Number of times a particular species was mentioned} / \text{total number of times that all species were mentioned}) \times 100$  (Tahira et al., 2015); it is used for a better relative expression of citations. The RFC was

calculated by the following formula:

$$RFC = FC / N (0 < RFC < 1).$$

This index is obtained by dividing the number of informants mentioning a useful species FC or frequency of citation by the total number of informants in the survey ( $N$ ) without bearing in mind the used categories (Vitalini et al., 2013).

#### 2.3.4. Use-value (UV)

UV was calculated according to the following formula (Musa et al., 2011):

$$UV = \Sigma U / n,$$

where  $U$  is the number of used reports cited by each informant for a given plant species and  $n$  is the total number of informants interviewed for a given plant. It demonstrates the relative importance of plants known locally. The relative importance of each species that the informants provided information for is also called cultural importance index (Pardo de Santayana et al., 2007).

**Note.** The RFC, FC, FI, and UV were calculated for the most cited plant.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Demographic characteristics of informants

The demographic data are reported in Table 1.

Seventy-nine informants were interviewed and divided into six different age groups (30–40, 41–50, 51–60, 61–70, 71–80, and 81–90 years), including 45 herbalists and 34 persons belonging to the local population (family and acquaintances 60 years old and above).

For the majority of women in the local population (91%), the age range of 61–70 (56%) with an average age of 65.5 years was the most dominantly represented. For herbalists, the most dominant age range was “30–40” with the average age being 35 years.

Comparing these two dominant average ages in the present study with the ages in other Mediterranean studies, it was found that in the local population, 65.5 years is close to the average age observed in the European areas (Cyprus, 63; Italy, 63; Spain, 65; Albania, 68) and nearly close to those in Morocco and Egypt of 55 and 50, respectively (Gonzalez-Tejero et al., 2008); in the majority of the men among herbalists (93%), 35 years was the lowest, compared with the ages in all the Mediterranean countries. This could indicate that the herbal heritage in the two cities can be better conserved in the future with this young educated

**Table 1**

Demographic features of the informants and number of cited medicinal plants by age group and educational level.

Total	Number of informants		Number of cited plants
	Herbalists	Local people	102
<b>Age years</b>	45	34	
30–40	24		68
41–50	7		84
51–60	8		89
61–70	6	19	66
71–80		12	40
81–90		3	12
<b>Educational level</b>			
Primary	6		87
Secondary	30		82
Academic	9		79

generation, and it could be transferred from the local population to the young herbalists.

### 3.2. Medicinal plant diversity

A total of 102 plants species and 90 genera distributed over 53 families were cited as having therapeutic properties (Supplementary material), especially Lamiaceae, Apiaceae, and Asteraceae (30%, 13%, and 11%, respectively) (Fig. 2). This could be due to the high content of phenolic and flavonoid compounds responsible for antioxidant activity in Lamiaceae, Asteraceae, and Apiaceae (Miliauskasa et al., 2004; Khled Khoudjaa et al., 2014; Maulidiani et al., 2014; Brahmi et al., 2015; Martinsa et al., 2016). The reported species belonged to herbs (51%), shrubs (25%), trees (13%), under shrubs (4%), small bushes, and climbers (2%); similar results in Pakistan reported that the most frequent habitat was herbs and shrubs (Ghulam et al., 2015). However, in Qatar, the most frequent habitat was herbs and trees (Prakash et al., 2015); these similarities or differences are explained by the nature of the flora, the climate, and mostly the geographic position of these countries. The diversity of medicinal plants reported in our study and that of Mascara (141 plants) (Benarba et al., 2015) could be considered important compared with the other studies carried out in Algeria, such as the study of the Tassili N'Ajjer (80 plants) (Hammiche and Maiza, 2015) and the region of M'sila (58 plants) (Boudjelal et al., 2013), whereas this diversity was lower than the diversity found in the surveys of some Mediterranean countries: 335 plants (Spain) (Parada et al., 2009), 224 plants (Spain) (Benitez et al., 2010), 222 plants (Turkey) (Güzel et al., 2015), 148 plants (Morocco) (Fakchich and Elachouri, 2014), and 121 plants (Balearic Islands) (Carrió and Vallès, 2012). This difference could be explained by the expanse of the studied area, soil nature, climate, or a difference in survey methodology. The dominance of botanical families was close to the dominance found in the Algerian (Boudjelal et al., 2013; Benarba et al., 2015; Hammiche and Maiza, 2015) and Mediterranean studies (Gonzalez-Tejero et al., 2008; Benitez et al., 2010; Fakchich and Elachouri, 2014; Tuttolomondo et al., 2014a, 2014b).

All the recorded species have the same vernacular name in all the municipalities of Constantine and Mila. This indicates a great homogeneity of vernacular nomenclature in the region, which represent the first and the most important aspect of the safe use of herbal medicine, i.e., to have the same identification of the plant everywhere.

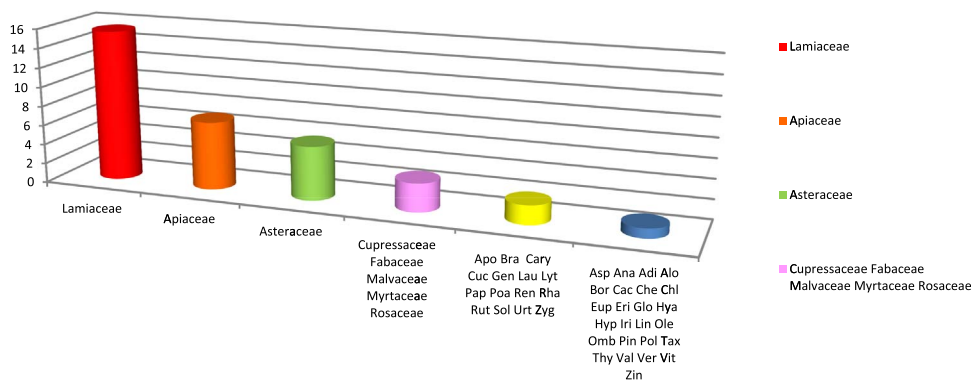


Fig. 2. Botanical families of the medicinal plants. Apo: Apocynaceae, Bra: Brassicaceae, Cary: Caryophyllaceae, Cuc: Cucurbitaceae, Gen: Gentianaceae, Lau: Lauraceae, Lyt: Lythraceae, Pap: Papaveraceae, Poa: Poaceae, Ren: Renonculaceae, Rha: Rhamnaceae, Rut: Rutaceae, Sol: Solanaceae, Urt: Urticaceae, Zyg: Zygophyllaceae. Asp: Asphodmaceae, Ana: Anacardiaceae, Adi: Adiantaceae, Alo: Aloaceae, Bor: Boraginaceae, Cac: Cactaceae, Che: Chenopodiaceae, Chl: Cholchicaceae, Eup: Euphorbiaceae, Eri: Eriaceae, Glo: Globulariaceae, Hya: Hyacinthaceae, Hyp: Hyppocatanaceae, Iri: Iridaceae, Lin: Linaceae, Ole: Oleaceae, Omb: Umbellifères, Pin: Pinaceae, Pol: Polygonaceae, Tax: Taxaceae, Thy: Thymeleaceae, Val: Valerianaceae, Ver: Verbrenaceae, Vit: Vitaceae, Zin: Zingiberaceae.

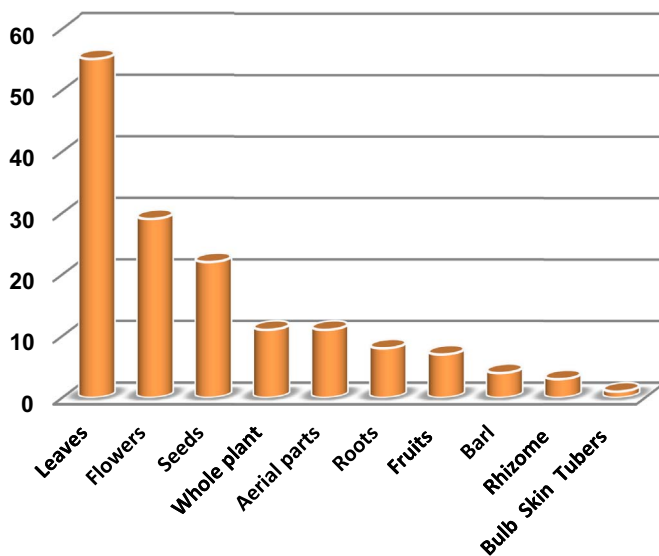


Fig. 3. Plant parts used by informants for medicinal purposes.

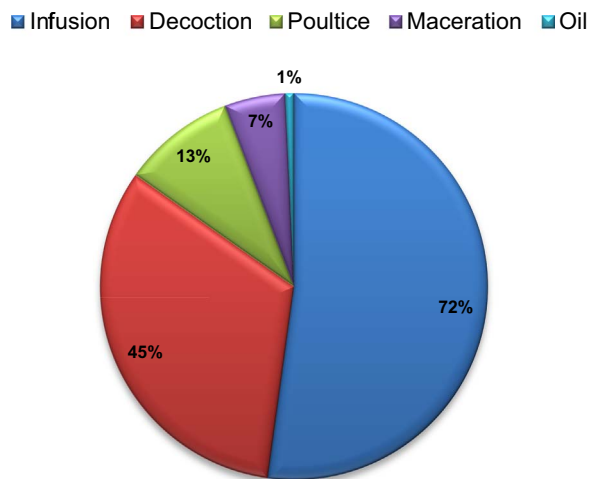


Fig. 4. Methods of herbal medicinal preparation used by the informants.

### 3.3. Parts of medicinal plants used

Data on different plant parts used in traditional medicine are indicated in Fig. 3. Those that are used the most are leaves (55%),

**Table 2**

New medicinal plants cited for the first time by Algerian herbalists and population compared with regional and global regions.

Family, plant name,	Vernacular and/or	Used	Preparation	Toxicity	Medicinal uses	Use value	Active compounds	References
voucher specimen codes.	Arabic name	parts	method		from the present study	UV		
<b>Adiantaceae</b>								
<i>Adiantum capillus Veneris</i> L. (GBBV PH/ 001)	Al rajeyfa : الرجيفة	L	I		Ulcer, urinary system diseases.	0.6	Isoadiantone isoadiantol-B 3amethoxy-4-hydroxyfilicane 3a-hydroxy,4-methoxy Filicane filicane derivative Quercetin-3-O-b-D-glucoside	Zedan et al. (2011)
<b>Apiaceae</b>								
<i>Coriandrum sativum</i> L. (GBBV PH/ 002)	Kousbour: كسبر	S	D/I		Menstruation, rheumatism, anemia, appetite, digestive disorders, cardiovascular problems vertigo, migraine, cough, anti-inflammatory, urinary system diseases, tranquilizer wounds, antispasmodic, atherosclerosis.	1.389	Linalool, neryl acetate $\gamma$ -terpinene, $\alpha$ -pinene, geranyl acetate. Aromatic acids (decenoic acid E-11-tetradecenoic acid, capric acid undecyl alcohol, tridecanoic acid, and undecanoic acid) Isocoumarins (coriandrin and dihydrocoriandrin coriandrone A and B, coriandrone C, D, and E) Polyphenolics (Caffeic acid, protocatechinic acid, and glycitin)	Asgarpanah and Kazemi-vash (2012)
<b>Apocynaceae</b>								
<i>Vinca major</i> L. (GBBV PH/ 003)	Anakiya kabira : عناقية كبيرة	L/Fl	I		Cardiovascular diseases.	1	Alkaloids : (10 Methoxyraucosaffrinoline, 11 Methoxyburnamin), saponins, , phenolic compounds, carbohydrates and sterols.	Boga et al. (2011)
<b>Asteraceae</b>								
<i>Dittrichia viscosa</i> , (L.) Greuter (GBBV pH/ 004)	Magramen: مقرمان	L/Fl	I/C			1.276	Limonene, Linalool, <i>p</i> -Cymen-8-ol, terpinen-4-ol, <i>p</i> -Mentha-1(7),2-dien-8-ol, cis <i>Calamenene</i> , trans-Bejarol, cis-Bejarol-	Blanc et al. (2005)
<b>Brassicaceae</b>								
<i>Arctium atlanticum</i> (Pomel) H.Lindb.	Arkatyoun : ارقطيون	R/L	I/D		Externally: anti-hair fall. Internally: purification, hypoglycemic activate the sweat gland antibiotic, digestive disorders dermatological diseases.	1.368		
<b>Boraginaceae</b>								
<i>Pulmonaria officinalis</i> L. (GBBV PH/ 006)	Riawiya makhzenia : مخزنية رنوية	Fl/L/R	I		Hypoglycemic, respiratory system diseases.	1.3	Quercetin, Kaempferol	Malinowska (2013)
<b>Cactaceae</b>								
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L). (Mill.) (GBBV PH/ 007)	Al hendi : الهندي	Fl	I		Respiratory system diseases, hemorrhoids.	0.956	Betanin, indicaxanthin, polyphenols, flavonols .	Daniella et al. (2002)

Table 2 (continued)

Family, plant name,	Vernacular and/or	Used	Preparation	Toxicity	Medicinal uses	Use value	Active compounds	References
							Isorhamnetin 3-O-(600-O-E feruloyl), neohesperidoside. (6R)-9,10-dihydroxy- 4,7-megastigmadien megastigmadien-3-one-9-O- b-D glucopyranoside b-D Glucopyranoside. (6S)-9,10-dihydroxy-4,7 megastigmadien	Muhammad et al. (2006)
Caryophyllaceae								
<i>Spergularia rubra</i> (L.) J. Presl & C. Presl. (GBBV PH/ 008)	Bsat al moulouk: بصاط الملوك	Fl	I/M		Diuretic and kidney pains, stones, liver, cholesterol.	1.029	Luteolin, apigenin, chrysoeriol derivatives, 7-O-glycosyl-6, 8-diC glycosyl flavone. 6,8-diC-glycosyl flavones. 2''-O-glycosyl-6-C-glycosyl flavone	Federico et al. (2011)
<i>Saponaria officinalis</i> L. (L.) J. Presl & C. Presl. (GBBV pH/ 009)	Sabounia makhzenia : صابونية مخزنية	L/R	I/C		Skin diseases.	1	Triterpenoid saponins (saponariosides).	Zhonghua et al. (1999)
<i>Colchicum autumnale</i> auct. Lib (GBBV PH/ 010)	Sourenjen al khareef/ سورنجان الخريف/الشميرة	AER. P.	I	Tox.	Stomachache, tranquilizer, ocular inflammation	1	Alkaloids colchicine and colchicoside	Poutaraud and Girardin. (2002)
Cupressaceae								
<i>Cupressus sempervirens</i> L. (GBBV PH/ 011)	Sarou: سرو	Fl	I/D		Burns and wounds, digestive disorders, respiratory system diseases, articular system diseases, diuretic, gynecological diseases, cardiovascular diseases.	1.143	Cosmosiin, caffeic acid, and p-coumaric acid ,	Nabaweya et al. (2007)
Gentianaceae								
<i>Gentiana lutea</i> L. (GBBV PH/ 012)	Jantiana safra: جانطيانا صفراء	S/Fl/L	I		Digestive disorders, sexual tonic appetite, rheumatism dermatological problems	0.805	Xanthone glycosides (7 hydroxy–3-methoxy-1-O primeverosyl xanthone and 1 hydroxy-3-methoxy-7-O primeverosylxanthone Triterpenoids(2,3-see-3 oxours-12-en-2-oic acid, , 2,3-seco and betulin3-O-palmitat)	Hayashi and Yamagishi (1988) Yoshitaka et al. (2003)
Hyacinthaceae								
<i>Urginea/ Drimia maritima</i> (L.) Stearn (GBBV PH/ 013)	Ansel: عنصل	Bu/R	I	TOX.	Rheumatism, kidney inflammation tumors, ulcer, influenza, diuretic, cardiovascular diseases	1.111	Bufadienolides dihydroquercetin-4' monoglucosideide quercetin-3 monoglucoside	Masaru et al. (2001) Fernandez et al. (1971)
Iridaceae								
<i>Crocus sativus</i> L. (GBBV PH/ 014)	Zaafraan zirai زعفران زراعي:	Fl			Immune system, tonic ocular affections gynecological diseases, insomnia and tranquilizer stomachache	1.286	Crocin and Safranal	Hosseini et al. (2007)
Lamiaceae								
<i>Melissa officinalis</i> L. (GBBV PH/ 015)	Al milissa: المليسا	L	I		Digestive disorders, neurological disorders,	1.4	Total polyphenol, total flavonoid, and terpenoides	Carnat et al. (1998)

				respiratory system diseases, urinary system diseases, osteoarthritis and rheumatism, cardiovascular diseases, sunstroke, migraine, throat pain headache, antispasmodic wounds and acne			
<i>Mentha viridis</i> (L.) L. (GBBV PH/ 016)	Naanaa: نعناع	L	I/D	Diuretic, anti-inflammatory, hypoglycemic, analgesic, cardiovascular diseases, rheumatism, menstruations, tranquilizer, mouth, antiseptic	1.41	$\beta$ -myrcene, $\gamma$ -terpinene, linalool, dihydroeugenol.	Mounira et al. (2009)
<i>Origanum vulgare</i> L. (GBBV PH/ 017)	Zaatar: زعتر	L		Digestive disorders, respiratory system diseases, antibiotic, analgesic, immune system, diuretic, cardiovascular diseases, gum.		Thymoquinone, Eugenol, Thymol, Carvacrol	Milos et al. (2000)
Lauraceae <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (GBBV PH/ 018)	Al karfa: القرفة	Ba	I	Menstruations.	1	(E)-Cinnamaldehyde, Benzaldehyde  (E)-Cinnamyl acetate, Limonene, Eugenol, $\alpha$ -Pinene	Mehmet et al. (2010)
Papaveraceae <i>Papaver rhoeas</i> L. (010_44)	Khaskhash manthour: خشخاش منثور	L	D	Tranquilizer for children and elderly, burns, antibacterial, uricemia, respiratory system diseases, bladder,	1.256	Rhoeagenine, Isorhoeadine	Rey et al. (1992)
Passifloraceae <i>Passiflora incarnata</i> L. (GBBV PH/ 019)	Nouar al saa: نوار الساعة	L	D	Tranquilizer.	1.099	C – glycosidic flavonoids Chrysin, Vitexin, Isovitexin, Kaempferol Harman Harmine, Harmaline; Palmitic Acid, Apigenin; Myristic Acid	Qimin et al. (1991) Miroddi et al. (2013)
Poaceae <i>Elymus repens</i> (GBBV PH/ 020)	Al qazmeer: القرمير	Rh	I	Digestive disorders, diuretic and kidney stones.	0.996		
Polygonaceae <i>Rheum palmatum</i> L. (GBBV PH/ 021)	Rawend kefi: راوند كفي	AER. P.	I/D	Digestive disorders, cancer, appetite, dermatological problems, menstruation pain antibiotic,	1, 006	Aloe-emodin, Emodin, Chrysophanol, Physcion	Wang et al. (2016)
Ranunculaceae <i>Aconitum napellus</i> L. (GBBV PH/ 022)	Al bish: البيش	R/Wh. P.	D	Tox. Rheumatism, tranquilizer, tonic, fever, analgesic	1.023	neoline, napelline, isotalatizidine, karakoline senbusine A, senbusine C, aconitine, taurenine	Kiss et al. (2013)
Rosaceae <i>Crataegus oxyacantha</i> L. (GBBV PH/ 023)	Al zaarour al shaek: الزعرور الشاع	Fl/L	I	Cardiovascular diseases, insomnia, vertigo, cholesterol regulation and hypoglycemic, diuretic.	1.300	Heptahydroxyflavan glycoside  procyanidins  Ursolic acid, Oleanolic acid	Bersin et al. (1955) Bilia et al. (2007) Verma et al. (2007)



Table 2 (continued)

Family, plant name,	Vernacular and/or	Used	Preparation	Toxicity	Medicinal uses	Use value	Active compounds	References
Ruscaceae								
<i>Ruscus aculeatus</i> L. (GBBV PH/ 024)	As beri shaek: اس بري شانك	Fl/L	I/D		Urinary system, digestive disorders, cardiovascular diseases, antispasmodic, sinusitis, psoriasis.	1.016	1-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 2)-6-O-acetyl-b-D-galactopyranosylx- 1 $\beta$ ,3 $\beta$ ,22j,26- tetrahydroxy-furost-5(6)-en-26-O-b-D- glucopyranoside	Combarieu et al. (2002)
Scrofulariaceae								
<sup>a</sup> <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. (GBBV PH/ 025)	Koumia sofia: قمعية صوفية	S/L	I	Tox.	Antispasmodic, wounds, stones, flatulence.	0.542	cardiac glycosides	Pellati et al. (2009)
Solanaceae								
<i>Atropa belladonna</i> L. (GBBV PH/ 026)	Sit el housn: ست الحسن	L/Aer. P.	I		Digestive disorders, neurological affections, rheumatism, analgesic, eyes, tranquilizer szudorific, decreases salivary secretions.	0.354	$\Delta$ -N-Methylornithine	Hedges and Herbert (1981)
Tiliaceae								
<i>Thymelea hirsuta</i> (L.) Endl (GBBV PH/ 027)	Al metnen: المتنان	R/S	I		Cysts, sterility.	1.102	Daphnoretin and $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glucoside	Rizk and Rimpler (1972)
Zygophyllaceae								
<sup>a</sup> <i>Zygophyllum cornutum</i> Coss. (GBBV PH/ 028)	Aggaya: عقاية	Wh. P./L/Fl/ Aer. P.	I/D		Hypoglycemic, digestive disorders, itching, respiratory system diseases, cardi- ovascular diseases.	0.65	Ursane type saponins	Betina-Bencharif et al. (2013)

## Abbreviations:

Used parts: L: leaves; Ba: bark; Fr: fruits; Fl: flowers; R: roots; Rh: rhizome; S: seeds; Tub: tuber; Wh.P.: whole plant; Aer. P.: aerial part.

**Preparation method:** D: decoction; I: infusion; M: maceration; O: oil; C: cataplasm; Inh: inhalation.**Toxicity:** Tox.<sup>a</sup> New plants reported for the first time in other countries.

**Table 3**  
List of medicinal plants most frequently cited and currently used by informants with use value (UV).

Taxa	Family	Nb. of interviews in which it was cited	FC (%)	RFC	Use value (UV)
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	Lamiaceae	57	72.15	0.91	2.280
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	49	62.02	0.78	2.040
<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Asteraceae	47	59.49	0.75	1.765
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Fabaceae	45	56.96	0.72	1.933
<i>Punica granatum</i> L.	Lythraceae	43	54.43	0.69	1.325
<i>Anthemis nobilis</i> L.	Asteraceae	41	51.90	0.66	2.244
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	41	51.90	0.66	1.439
<i>Myrtus communis</i> L.	Myrtaceae	41	51.90	0.66	1.586
<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiaceae	40	50.63	0.64	1.875
<i>Nigella damascena</i> L.	Ranunculaceae	40	50.63	0.64	1.350
<i>Mentha viridis</i> (L.) L.	Lamiaceae	39	49.37	0.62	1.410
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Lythraceae	36	45.57	0.58	1.139
<i>Parietaria officinalis</i> L.	Urticaceae	36	45.57	0.58	0.888
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Anacardiaceae	36	45.57	0.58	1.083
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	36	45.57	0.58	1.389
<i>Lavandula officinalis</i> L.	Lamiaceae	35	44.30	0.56	2.143
<i>Lepidium sativum</i> L.	Apiaceae	34	43.04	0.54	1.794
<i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Brassicaceae	34	43.04	0.54	1.264
<i>Spergularia rubra</i> (L.) J. Presl & C. Presl.	Caryophyllaceae	34	43.04	0.54	1.029
<i>Mentha pulegium</i> L.	Lamiaceae	33	41.77	0.53	1.303
<i>Laurus nobilis</i> L.	Lauraceae	33	41.77	0.53	0.115
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Myrtaceae	33	41.77	0.53	0.115
<i>Ruta graveolens</i> L.	Rutaceae	33	41.77	0.53	1.212
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Fabaceae	32	40.51	0.51	1.687
<i>Cerantonia siliqua</i> L.	Fabaceae	32	40.51	0.51	1.062
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	Gentianaceae	32	40.51	0.51	1.219
<i>Origanum majorana</i> L.	Lamiaceae	31	39.24	0.50	1.903
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Poaceae	31	39.24	0.50	1.194
<i>Crataegus azarolus</i> L.	Rosaceae	31	39.24	0.50	1.032
<i>Crataegus oxyacantha</i> L.	Rosaceae	30	37.97	0.48	1.300
<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	30	37.97	0.48	1.600
<i>Aloe</i> sp. L.	Aloaceae	30	37.97	0.48	1.333
<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	30	37.97	0.48	1.567
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter	Asteraceae	29	36.71	0.46	1.276
<i>Thapsia garganica</i> L.	Apiaceae	29	36.71	0.46	0.828
<i>Peganum harmala</i> L.	Zygophyllaceae	28	35.44	0.45	1.357
<i>Ajuga iva</i> L.Schreb	Lamiaceae	28	35.44	0.45	1.393
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Lamiaceae	28	35.44	0.45	1.179
<i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	27	34.18	0.43	1.286
<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) Lag.	Asteraceae	26	32.91	0.42	0.846
<i>Globularia alypum</i> L.	Globulariaceae	26	32.91	0.42	0.654
<i>Anethum graveolens</i> L.	Apiaceae	25	31.64	0.40	1.360
<i>Capparis spinosa</i> (L.) A. Rich.	Capparaceae	25	31.64	0.40	0.760
<i>Ecballium elaterium</i> L.	Cucurbitaceae	24	30.38	0.38	1
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Cupressaceae	21	26.58	0.33	1.143
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Hyppocastanaceae	20	25.31	0.32	1.750
<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae	20	25.31	0.32	1.500
<i>Ruta montana</i> L.	Rutaceae	20	25.31	0.32	0.800
<i>Tilia cordata</i> Mill.	Tiliaceae	20	25.31	0.32	1.400
<i>Zygophyllum cornotum</i> Coss.	Zygophyllaceae	20	25.31	0.32	0.650

followed by flowers (29%), and finally seeds (22%). The frequent use of leaves in traditional medicine was found in several ethnobotanical surveys (Parada et al., 2009; Benitez et al., 2010; Carrió and Vallès, 2012; Tahira et al., 2015; Tuttolomondo et al., 2014a; Benarba et al., 2015; Güzel et al., 2015); this dominance does not mean that the other parts are not rich or less rich in active compounds, because it is well known that the whole plant contains the active compounds. This can be explained by the fact that most informants have inherited traditional knowledge rather than scientific knowledge (Boudjelal et al., 2013). However, the use of leaves more than other parts may be due to the abundance of these compared with the other parts (Yemele et al., 2015); they present fewer difficulties in collecting them (Giday et al., 2009) and for plant conservation (Kadir et al., 2012, 2013), because collecting the whole plant might cause its disappearance (Telefo et al., 2004).

### 3.4. Method of preparation

We noted that two modes of administration are prescribed: internal (infusion, decoction, and maceration) and external use (cataplasm and oil). Infusion is the most used method (72%) followed by decoction (45%) (Fig. 4). Similar results were obtained in previous ethnobotanical surveys carried out in Algeria and other parts of the world (Parada et al., 2009; Benitez et al., 2010; Boudjelal et al., 2013; Fakchich and Elachouri, 2014; Tuttolomondo et al., 2014a, 2014b; Tahira et al., 2015; Benarba et al., 2015; Hammiche and Maiza, 2015; Güzel et al., 2015). These two methods are the most used because extraction of active substances using heat is faster (Kayani et al., 2015), while the percentages of use of cataplasm, maceration, and oil were 13%, 7%, and 1%, respectively. Most of these preparations use water as a liquid extractor (Mood, 2008; Andrade-Cetto, 2009). Sixteen of the 102

**Table 4**  
Categories of wild medicinal plants in Constantine and Mila with associated informant consensus factor.

No.	Illness categories	Number of taxa	Number of use report	Informant consensus factor (ICF)	Incidence <sup>a</sup> (%)
		(Nt)	(Nur)		
1	Skin diseases	39	153	0.75	9
2	Gastrointestinal system diseases	73	594	0.87	16
3	Urinary system, gynecologic, and men reproductive diseases	67	242	0.73	14
4	Respiratory system diseases	51	170	0.70	13
5	Cardiovascular diseases	35	115	0.70	8
6	Metabolic system	35	120	0.71	8
7	Eye infections	6	12	0.54	2
8	Articular system diseases and traumatic muscular	34	108	0.69	9
9	Tumors or cancer	11	15	0.29	2
10	Inflammations	14	41	0.68	3
11	Immune system	9	12	0.27	2
12	Nervous system diseases	33	229	0.86	8
13	Oral sphere	15	24	0.39	3
14	General health	45	275	0.84	10

Note: The same specie may be listed in several ailment category.

1. Skin diseases: dermatose, eczema, psoriasis, wounds, gall, itching, burns, open pores, anti-spots, insect bite.
2. Gastrointestinal: stomachache, flatulences, gastric and intestinal ulcer, jaundice and liver problems, bile, hemorrhoids, diarrhea, wormer, colopathy, pancreas activation, acid reflux.
3. Urinary system, Gynecological and men reproductive diseases: kidney stones, kidney inflammation, bladder, prostate, diuretic, menstruation, female sterility, menopause, postpartum, male sterility, and sexual weakness.
4. Respiratory system diseases: allergy, asthma, influenza, cough, angina, pharyngitis, lung diseases, noise, throat pain.
5. Cardiovascular diseases: hypertension, palpitations, heart disorders, blood circulation, varicose veins.
6. Metabolic system: atherosclerosis, diabetes, gout, cholesterol regulation.
7. Eye infection: everything about eye ailments.
8. Articular system diseases and traumatic muscular: rheumatism, osteoarthritis, fracture, bones and articulation pain, muscle pain.
9. Tumors and cancer: everything about cancer.
10. Inflammation: anti-inflammatory properties.
11. Immune system: everything about immune system ailments.
12. Nervous system diseases: Alzheimer, insomnia, tranquilizer, neurological disorders, phobia, anxiety.
13. Problems of oral sphere: gum, teeth.
14. General health: endocrinology system, tonic, analgesic, antipyretic, antibacterial, antifungal, and antispasmodic properties, secretions, purification, memory, headache, edema, ear pain, sudorific.

<sup>a</sup> As percentage of records on the total of 467 records.

reported plants (16%) were cited by herbalists as being used in a mixture with other adjuvants such as honey, olive oil, dates, and milk. Honey was the most used adjuvant (70%), followed by olive oil (23%) and finally milk (7%). The addition of honey makes it easier to ingest plants having a bitter taste (e.g. *Artemisia campestris* L. subsp. *Eu-campestris* Briq. and Cav. used with honey) or optimizes the action of the plants. Furthermore, the addition of olive oil to the plant improves its therapeutic effect or protects the body from side effects (*Thapsia garganica* L. with olive oil protects the skin from its urticant properties). In addition to these preparation modes, many plants (12%) have culinary use in the population: *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Crocus sativus* L., *Ocimum basilicum* L., *Lavandula stoechas* L., *Mentha pulegium* L., *Mentha x piperita* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& L.M. Perry, *Nigella damascena* L., *Zingiber officinale* Roscoe (Table 2).

### 3.5. Most frequently cited plant species and medicinal uses

In this study, the most cited plants were those that had at least 20 or more citations (Table 3). Plants that treat three ailments and more (86%) represent the majority, followed by plants that treat single ailments (8%), and finally those that treat two ailments (6%), which represent the lowest frequency.

The high frequency of citations of medicinal plants can be explained by the fact that these plants are the best known and have long been used by the majority of informants, representing a source of reliability. In the present study, the highest number of citations was for *Origanum glandulosum* Desf. (57 citations) used in the treatment of gastrointestinal system diseases; we found the same genus in other Mediterranean regions: Albania (*Origanum*

*vulgare*) and Morocco (*Origanum majorana*) (Gonzalez-Tejero et al., 2008), followed by *Rosmarinus officinalis* L. (49 citations) and *Artemisia herba alba* Asso. (47 citations), which were used for the same system illnesses. We also found the same use for *Artemisia herba alba* Asso. in another Algerian survey (Gonzalez-Tejero et al., 2008). *Spergularia rubra* (L.) J. Presl & C. Presl. (34 citations) was used for the treatment of urinary system, gynecologic, and reproductive diseases. We noted also a high citation for *Eucalyptus globulus* Labill. (33 citations), which was used for the treatment of respiratory system disease; the same plant is reported in Mascara survey (Benarba et al., 2015). As indicated by the informants, the different therapeutic uses of medicinal plants are used to treat 13 categories of different diseases (general health is considered as a category of unclassified injuries in consideration of traditional medicine; hence, it is not considered in the comparison) (Table 4). The category of gastrointestinal diseases (16%) was treated first similar to that observed in a majority of the surveys in many Mediterranean regions: Albania, Cyprus, Italy, Egypt, and Morocco (Gonzalez-Tejero et al., 2008); the second category was urinary, gynecologic, and reproductive diseases (14%). Respiratory diseases formed the third category (11%). This corresponds well to acute and chronic diseases being communally treated by herbal medicine (Gonzalez-Tejero et al., 2008).

### 3.6. New reports and new uses

On comparing our results with other ethnobotanical studies in Algerian regions, 28 new species were found, including 12 newly reported species in other regions in the world (Table 2). Besides, 159 new medicinal uses in a total of 31 known plants were noted from our survey for the first time in the region (Table 5), and there

**Table 5**  
New medicinal uses compared with other ethnobotanical studies in Algerian regions.

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from other Algerian region studies	References
<i>Anethum graveolens</i> L.	Lactation, antioxidant, weight loss	Diuretic, hepatic diseases. Bad breath, insomnia.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015)
<i>Nerium oleander</i> L.	Analgesic, gum.	Antitumor, leishmanicidal, eczema. Skin diseases: Diabetes, hair loss, fever, headaches, Syphilis, abortive toothache Respiratory system.	Boudjelal et al. (2013) Hammiche and Maiza, (2006) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Analgesic, respiratory system diseases, blood purification, cancer.	Antidiabetic, antispasmodic, carminative, eczema. Digestive system, others.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Artemisia campestris</i> L. subsp. <i>eu-campestris</i> Briq. And Cav.	Weight loss, antidote, antispasmodic, wound, kidneys.	Antidiabetic, antihypertensive. Goiter, cough, bronchitis. Postpartum care: analeptic, spasms and aid to menstruation, helminthiasis, stomach and liver diseases, healing, vulnerary mycosis, dandruff.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015) Hammiche and Maiza, (2006)
<i>Anthemis nobilis</i> L.	Analgesic, menstruation balance and their pain, appetite, weight loss, cardiovascular diseases, respiratory diseases, immune system diseases, antispasmodic, headache.	Anti-inflammatory, sedative, eczema.	Boudjelal et al. (2013)
<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) Lag. <i>Capparis spinosa</i> L.	Respiratory system diseases, spermatozoids, tonic, flatulence Dermatological problems, influenza, varicose veins	Female sterility, cough, cancer. Rheumatic pains, headache.	Benarba et al. (2015) Hammiche and Maiza, (2006)
<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrader	Rheumatism, hypoglycemic, coagulant, urinary system diseases, gynecological diseases.	Antihypertensive, antitumor. Musculare.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Urinary system diseases, digestive disorders, respiratory system diseases, antihypertensive, hypoglycemic, migraine, rheumatism, articular system diseases, dermatological diseases.	Anti-inflammatory, eye infections.	Boudjelal et al. (2013)
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Anti-inflammatory, appetite, immune system diseases, digestive disorders, metabolic system diseases, lactation, respiratory system diseases, anemia, diuretic, wounds.	Diabetes, tonic, analeptic, blood cleaning. Nutritional.	Hammiche and Maiza, (2006) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	Hypoglycemic, blood purification, cancer, eyes, appetite, antihypertensive.	Antipyretic, digestive disorders.	Boudjelal et al. (2013)
<i>Globularia alypum</i> L.	Gynecological diseases, blood purification, antiseptic, excitant, antifungal, wounds, respiratory system diseases.	Antidiabetic, leishmanicidal, digestive disorders, eczema Constipation, diabetes, fever, mycosis. Digestive system.	Boudjelal et al. (2013) Hammiche and Maiza, (2006) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Antispasmodic, antiseptic, antifungal, weight loss, digestive disorders, migraine, fever, antiaging, diuretic, lactation, dermatological problems.	Flu, hypertension, laryngitis cough, stomachache, goiter analgesic. Sensory, mental nervous, cardiovascular system.	Benarba et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Memory, anemia, antidepressive, cholesterol, asthma, teeth, wart.	Antihypertensive, hepatic diseases, antitumoral, eczema. Cardiovascular system.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Salvia officinalis</i> L.	Nervous system diseases, muscles pain, headache, memory, analgesic, antispasmodic, wounds, influenza, rheumatism, cholesterol, gynecological diseases, teeth.	Antidiabetic, antihypertensive, weight loss, eczema. Digestive system.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ajuga iva</i> L.Schreb	Sterility and uterus purification, nervous system diseases, memory, anti-transpiring, obesity, rheumatism, hormonal system, anemia, anti bacterial, cancer, respiratory system diseases, kidneys inflammation, cholesterol, teeth.	Antidiabetic, antihypertensive, leishmanicidal, digestive disorders, eczema. Thyroid problems. Mental nervous.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)

Table 5 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from other Algerian region studies	References
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Tonic, fever, analgesic, antispasmodic, migraine, wound, cardiovascular system diseases, respiratory system diseases.	Antidiabetic, leishmanicidal, digestive disorders. Digestive system, nutritional.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Mentha pulegium</i> L.	Respiratory system diseases, digestive disorders, mouth and gum, tranquilizer.	Antihypertensive, antispasmodic Digestive system.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	respiratory system diseases, anti biotic, analgesic, immune system, diuretic.	Antihypertensive, digestive disorders.	Boudjelal et al. (2013)
<i>Teucrium polium</i> L.	Wound, coagulant.	Chills, fever. Digestive system.	Hammiche and Maiza, (2006) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Migraine, antimicrobial, bones, eyes, tranquilizer.	Kidney diseases.	Benarba et al. (2015)
<i>Malva sylvestris</i> L.	Urinary system diseases, asthma and cough, uterus pain, mouth diseases.	Anti-inflammatory, weight loss. Skin, digestive system.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Myrtus communis</i> L.	Digestive disorders, urinary system disorders, hormones, tranquilizer.	Antihypertensive. Cancer. Skin.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Olea europaea</i> L.	Cholesterol regulation.	Hypoglycemic, antihypertensive, eczema. Musculare, sensory, digestive, cardiovascular system. Analgesic.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Papaver somniferum</i> L. subsp. <i>setigerum</i> (DC.) Arcang.	Hypnotic, anesthetic, muscle relaxant.		Benarba et al. (2015)
<i>Rhamnus alaternus</i> L. subsp. <i>alaternus</i>	Nervous system disorders, hypoglycemic and cholesterol, cancer, stomachache, headache.	Hepatic diseases. Skin.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015)
<i>Zizyphus lotus</i> (L.) Lam.	Stomachache, urinary system diseases.	Anti inflammatory, wound healing, eczema.	Boudjelal et al. (2013)
<i>Thymelea hirsuta</i> (L.) Endl	Cyst.	Leishmanicidal, vermifuge, eczema. Female sterility.	Boudjelal et al. (2013) Benarba et al. (2015)
<i>Taxus baccata</i> L.	Anemia, tranquilizer, cardiovascular diseases.	Reproductive system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Urtica dioica</i> L.	Rheumatism, anemia, thyroid problems. Urinary system diseases, dermatological problems, anemia, coagulant, suprarenal gland.	Antidiabetic, anti-inflammatory. Digestive system.	Boudjelal et al. (2013) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Nervous system diseases, headache, teeth, menopause disorders, colopathy.	Hypertension.	Benarba et al. (2015)
<i>Vitis vinifera</i> L.	Varicose veins, wounds and burns, prostate.	Cancer, anemia, digestive disorders, memory. Digestive system.	Benarba et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Anti-inflammatory.	Cough, allergies, blood circulation, appetite, digestive disorders, liver diseases, kidney diseases, hypertension, hypercholesterolemia, female sterility, aphrodisiac, increasing immunity, rheumatism.	Benarba et al. (2015)
<i>Peganum harmala</i> L.	Sudorific, blood purification, antispasmodic, memory, respiratory system diseases.	Antidiabetic, antihypertensive. Rheumatism, back pains, fever, lips sore, herpes, emmenagogue, diabetes, jaundice, helminthiasis, nervous disorders, just married sexual weakness.	Boudjelal et al. (2013) Hammiche and Maiza, (2006)

Table 5 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from other Algerian region studies	References
		Mental nervousness cardiovascular system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)

were 369 new therapeutic applications of 75 known plants compared with those in other regions in the world (Table 6). We observed these new medicinal uses for one species in many ailment categories. On the national level, we can cite the following examples:

- The present survey indicated that *Anthemis nobilis* L. was used in cardiovascular diseases, respiratory diseases, and immune system diseases and more, although it is only used as an anti-inflammatory and sedative and in eczema, according to Boudjelal et al. (2013).
- *Rhamnus alaternus* L. subsp. *alaternus* used for nervous system disorders, hypoglycemic, cholesterol, and cancer in the present study were indicated by Boudjelal et al. (2013) and Benarba et al. (2015) to be used in hepatic diseases and anemia, respectively.  
On the Mediterranean plan, we can cite the following:
- *Syzygium aromaticum* L. (L.). Merr. and L.M. Perry (used for urinary system diseases, tranquilizer, respiratory system diseases, hypoglycemia, and others) is used as an aphrodisiac and for mouth sore odor according to Merzouki et al. (2000) and Güzel et al. (2015), respectively.
- *Pinus sylvestris* L. (used for cancer prevention, urinary system, articulation pain, and others) were indicated to be used as an antitussive and pertussis by Güzel et al. (2015).
- *Ruta graveolens* L. (used in rheumatism, diuretic, nervous system diseases, menstruation pain, ear pain, cardiovascular diseases, metabolic disorders, and others) were reported to be used for intestinal worms and digestive and respiratory system diseases by Tuttolomondo et al. (2014b) and Gonzalez-Tejero et al. (2008), respectively.
- We can also add *Artemisia herba alba* Asso. for respiratory system diseases and cancer and *Citrullus colocynthis* (L.) for urinary system diseases, the medicinal uses of which are new in Algeria and in the world compared with those given by Merzouki et al. (2000), Said et al. (2002), Gonzalez-Tejero et al. (2008), Boudjelal et al. (2013), and Fakhich and Elachouri (2014).

These comparisons with other ethnobotanical studies in the neighboring and Mediterranean regions showed new therapeutic uses have been reported in the present survey; thus, it would be interesting to conduct some clinical assays to attest them.

Some of the new medicinal plants attract our attention because their medicinal uses agree with scientific research works; the others should be studied pharmacologically to prove their clinical efficacy and safety. Two of the newly reported plants in national and different regions in the world are as follows:

- *Spergulariarubra* (L.) J. Presl and C. Presl. with an FI of 88.83% and UV of 1.029 are used for urinary system, gynecological, and reproductive diseases; its traditional use correlates with chemical and pharmacological studies, especially for diuretic, hypoglycemic, and antihypertensive properties and as cholesterol-lowering agents in many species for the genus *Spergularia* (De Tommasi et al. 1998; Jouad et al. 2003).
- Another interesting new plant at the international level is *Zygophyllumcornutum* Coss, an endemic specie, with a UV of 0.650 and an FL of 65% as the frequently cited plant indicated for treating metabolic system illness, which could be very

interesting for further phytochemical and clinical studies, like *Zygophyllumgaetulum*, the scientific study of which supports potential clinical utility in the treatment of diabetes mellitus (Jaouhari et al. 1999).

With regard to quantitative indices, we found on the national level two interesting species with a high UV:

- *Mentha x piperita* L. (1.500) and *Mentha viridis* (L.) L. (1.410) are two plants rich in sesquiterpenes reputed for their antiseptic, analgesic, and diuretic properties and their stimulating digestive and tranquilizer effects (Bruneton, 1999); for the first plant, leaves are used in infusion or decoction, particularly for digestive disorders and as tranquilizer. The second plant is used in infusion or decoction of leaves as a tranquilizer, analgesic, antiseptic, and diuretic.  
At the international level, we can cite the following:
- *Rheum palmatum* L. with an UV of 1.350 and *Crataegus oxyacantha* L. with an UV of 1.300 and an FL of 86.66% are used for treating cardiovascular diseases.
- *Spergularia rubra* (L.) J. Presl and C. Presl with an UV of 1.090 and an FL of 88.23% are used for urinary system diseases.
- *Crataegus azarolus* L. has an UV of 1.032.

At the national level, we note hypocholesterolemiatic activity of olive leaves as a new use, which is recorded for the first time in Algeria; in addition, some new recoded plants that usually had culinary use in Algeria as condiments or spices, such as *Laurus nobilis* L., *Coriandrum sativum* L., *Mentha x piperita* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Nigella damascena* L., *Mentha viridis* (L.) L., and *Origanum vulgare* L., are reported for the first time to be having therapeutic uses compared with the findings in all the national surveys; this confirms the rich knowledge of the herbalists in the region.

A few species that were considered as toxic were recorded by herbalists. Despite the toxicity, the plants have active substances responsible for therapeutic effects, but at a lower dosage (Blackwell, 1990); generally species that are considered toxic are used externally. Consequently, this category of plants should be on a special list controlled and sold with sanitary authorization, and this should be the role of pharmacovigilance, which is defined by the World Health Organization as a science or a set of activities related to the detection, evaluation, and understanding and prevention of the risk of adverse effects (or other problems) related to drugs marketed for payment or free title. Hence, pharmacovigilance is essential for collecting reliable information on the safety of medicinal plants for the development of appropriate guidelines for safe effective use (Shaw et al., 2012).

### 3.7. Quantitative analyses of ethnomedicinal data

#### 3.7.1. Informant consensus factor

The ICF was calculated for each ailment category and the range was from 0.07 to 0.87 (Table 4). The highest ICF (0.87) was reported for gastrointestinal system diseases with 78 species and 594 uses were reported, followed by nervous system diseases (0.86). The high ICF values indicate a high homogeneity of knowledge between the informants. Concerning the highest ICF of gastrointestinal system diseases, the same result was found in the

**Table 6**  
New medicinal uses compared with other ethnobotanical studies in neighboring and Mediterranean countries.

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Edema, urinary system diseases, genital disorders, dermatological problems.	Emetic and gastric lavage, tooth care, halitosis, labor pains, and asthma. Digestive system, diabetes, cardiovascular diseases. Jaundice and respiratory problems. Digestive problems	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008) Merzouki et al. (2000)
<i>Anethum graveolens</i> L.	Lactation, respiratory diseases, nervous system diseases, antioxidant, weight loss.	Food poisoning, sorcery.	Merzouki et al. (2000)
<i>Pimpinella anisum</i> L.	Pain, newborn, lactation.	Digestive, diuretic, spasmolytic, expectorant, stimulant, carminative and tooth care. Digestive system, cardiovascular diseases, respiratory system diseases. Gases, gastralgia, digestive disorder. Stomachache, intestine pain, headache and fertility. nutritional, digestive problems, others.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Cuminum cyminum</i> L.	Tranquilizer, analgesic, cough, antispasmodic, rheumatism, lactation.	Gas Digestive problems.	Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Analgesic, antispasmodic, rheumatism and muscular problems, lactation, weight loss.	Digestive system, diabetes, cardiovascular diseases. Digestive disorders. Gas, digestive disorder, gastralgia, cold. Intestinal regulation, indigestion, carminative. Digestive problems mental nervous, respiratory system kidney, nutritional.	Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014a) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Carum carvi</i> L.	Antioxidant, appetite, salivary secretions, lactation, rheumatism, tranquilizer, wart.	Labor pains, dyspepsia, spasmolytic, carminative digestive. Digestive system, diabetes.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014)
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Menstruation, rheumatism, anemia, appetite, cardiovascular problems, vertigo, migraine, cough, anti-inflammatory, tranquilizer, wounds, antispasmodic, atherosclerosis.	To remove bad spirit. Digestive system, urinary system, allergy. Stomach pains, gastritis ulcer, Heart disorders. Intestinal inflammation, weight loss and intestinal gas.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002)
<i>Cuminum cyminum</i> L.	Tranquilizer, analgesic, cough, antispasmodic, rheumatism, lactation.	Gastric pains, carminative and sudorific. Stomach pain. Carminative Digestive problems.	Merzouki et al. (2000) Tuttolomondo et al. (2014b) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Artemisia campestris</i> L. subsp. <i>eu-campestris</i> Briq. And Cav.	Weight loss, antidote, antispasmodic, wound, kidneys.	Baldness.	Benitez et al. (2010)
<i>Nerium oleander</i> L.	Analgesic, gum.	Food poisoning, calefacient and diuretic. Diabetes, mouth problems, skeleton–muscular system problems. Resolvent (warts, pimples). Hemorrhoid, rheumatism pains, skin diseases. Respiratory system, skin, others.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014a) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Lepidium sativum</i> L.	Rheumatism and bone problems, antioxidant, goiter, tonic, memory, dermatological problems, diuretic, hypoglycemic, antibiotic, tumors, immune system, appetite, anemia, anti-hair loss.	Migraine. Digestive system problems, cardiovascular diseases, respiratory system diseases.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014)
<i>Capparis spinosa</i> L.	Skin problems.	Cholagogue. Diabetes. Appetizer, emmenagogue inflamed or suppurating wounds, antiseptic. Deafness, back diseases, female infertility. Nutritional, digestive, cardiovascular, and	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)

Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrader	Coagulant, urinary system diseases.	respiratory system. Diabetes, rheumatic pains, tuberculosis, syphilis and spasmolytic Diabetes, circulatory system problems, cholesterol regulation. Liver diseases and diabetes Muscular, digestive, reproductive and respiratory system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Saponaria officinalis</i> L.	Dermatological diseases.	Rheumatic pains, depurative, diuretic and emetic.	Merzouki et al. (2000)
<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Analgesic, respiratory system diseases, blood purification, tranquilizer, cancer.	For rheumatic pains and helminthiasis, incense in ritual and magic practices. Digestive system problems, diabetes, dermatological problems. Nervous system, heart diseases, sexual weakness and diabetes. Digestive system problems others.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Dittrichia viscosa</i> , (L.) Greuter	Cough, antifungal, hemorrhoids, rheumatism, fever, anti-inflammatory, immune system, osteoarthritis.	Digestive system problems, diabetes, cardiovascular problems. Hematomas, wounds, swelling. Contusion, bone fracture, calluses and skin hardness, injury. Asthma, shortness of breath, kidney stones, hemostatic, inflamed or suppurating wounds, antiseptic. Muscle relaxation and infertility. Muscular, skin, digestive cardiovascular system. Heart diseases and diabetes	Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al., (2014a, (2014b Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008) Said et al. (2002) Fakchich and Elachouri (2014)
<i>Atriplex halimus</i> L. <i>Anacyclus pyrethrum</i> ( L.) Lag.	Thyroid Respiratory system diseases, spermatozoids, tonic, flatulence, wart.	Digestive system problems, diabetes, allergy.	Said et al. (2002) Fakchich and Elachouri (2014)
<i>Ecballium elaterium</i> (L). A. Rich.	Hemorrhoids, migraine, rheumatism, cardiovascular diseases, bladder, asthma, uricemia, scabies, respiratory system, and urinary system problems.	Emetic and poison Fistulas, hematomas, wounds. Liver diseases, jaundice and sinusitis. Mental nervous system.	Merzouki et al. (2000) Tuttolomondo et al. (2014a) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Burns and wounds, respiratory system diseases, articular system diseases, diuretic, gynecological diseases.	Hemorrhoids, baldness, otalgia. Digestive, cardiovascular system, skin.	Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Digestive disorders, respiratory system diseases, antihypertensive, hypoglycemic, migraine, rheumatism, articular system diseases.	Odontalgia, pain, eczema undefined, appetizer. Cystitis	Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015)
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Cardiovascular diseases, nervous system diseases, diuretic, anti-inflammatory.	Cough. Digestive system problems, respiratory system problems, allergy. Cold, cough Constipation, Cold. Expectorant, stomach pains, gastritis ulcer intestinal regulation, indigestion, antidiabetic, menstrual pains, mouth sores odor. Fever, ulcer, kidney diseases and asthma. Respiratory, digestive and reproductive system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014a) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ricinus communis</i> L.	Sterility, breast pain, urine alcalinisation, lactation.	To treat cow jaundice. Fever, dermatological problems, skeleton–muscular system problems. Digestive disorder, cold. Laxative. Hair loss Hair loss and skin diseases Mental nervous system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Tuttolomondo et al. (2014b) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Tonic, fever, analgesic, antispasmodic, migraine.	Dermatological problems, digestive problems, respiratory	Fakchich and



Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
		system, Pmusq. Cough, bronchitis.	Elachouri (2014) Tuttolomondo et al., (2014a, (2014b Merzouki et al. (2000)
		Expectorant, tonic, bilious stimulation and for bronchitis and menstrual pains.	
		Hypercholesterolemia, cough gastralgia, herpes, erysipelas.	Benitez et al. (2010)
		Stomach pain and inflammation, bronchitis, nervous system and asthma, eye inflammation.	Said et al. (2002)
		Respiratory, digestive, cardiovascular system nutritional, skin.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Anti-inflammatory, appetite, immune system diseases, lactation, diuretic, anemia, wounds.	Digestive system problems, diabetes, respiratory system diseases. Diabetes, sexual weakness, stomach and intestinal pain Digestive system.	Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Cerantonia siliqua</i> L.	Rheumatism, blood purification, antihypertensive, cough, salivary secretions, appetite.	Stomachic and intestinal winds. Hemorrhoids, Diarrhea. Anemia, invigorating, palpitation, aphrodisiac, anticancer. Diabetes. Nutritional, digestive system.	Merzouki et al. (2000) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Centaurium Erythrae</i> Rafn	Blood purification, cancer, eyes, appetite, antihypertensive.	stomachache, digestive, for helminthiasis and bilious. Diabetes, tonic. Fever. Skin, others, digestive system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014b) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Globularia alypum</i> L.	Gynecological diseases, blood purification, anti septic, excitant, anti fungal, wounds, respiratory system diseases.	Hypoglycemic, digestive, for bilious stimulation and as laxative. Digestive system problems, diabetes, allergy. Digestive system.	Merzouki et al. (2000). Fakchich and Elachouri (2014). Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Drimia maritima</i> (L.) Stearn	Rheumatism, kidney inflammation, ulcer, Cardiovascular diseases.	Febrifuge, diuretic, sedative, hemorrhoids and cancer. Warts, skin problems. Contusions, hematomas, wounds. Skin diseases. Cardiovascular skin, muscular, respiratory system.	Merzouki et al. (2000) Benitez et al. (2010) Tuttolomondo et al. (2014a) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Gynecological diseases, diuretic, immune system diseases, shaking.	Hemorrhoids, odontalgia. Cardiovascular, respiratory system.	Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Crocus sativus</i> L.	Immune system, memory, cancer, ocular affections, insomnia and tranquilizer, stomachache.	Tonic and laxative. Microbial infection, respiratory system diseases, head problems. Odontalgia, dysmenorrhea.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010)
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Antispasmodic, antiseptic, antifungal, weight loss, migraine, fever, antiaging, diuretic, lactation.	Depression, migraine, stomach and intestinal ache. Sensory, mental nervousness, cardiovascular, skin.	Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Memory, anemia, antidepressive, cholesterol, asthma, teeth, wart.	Spasmolytic, diuretic, carminative and sedative. Asthma. Cold, cough, circulatory problems, gastritis, bronchitis, hypercholesterolemia, hyperglycemia, gout, obesity, varicose veins, prostatism, pain, rheumatism, injury, baldness, hoarseness, mouth infections, herpes, appetizer, stomach pains, gastritis ulcer, diuretic-anti-edemic, anticancer. Skin, nutritional, musculare, cardiovascular, sensory, mental nervousness, respiratory system.	Merzouki et al. (2000) Tuttolomondo et al., (2014a, (2014b Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)

Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
<i>Salvia officinalis</i> L.	Muscle pain, headache, memory, analgesic, anti-spasmodic, wounds, rheumatism, cholesterol, gynecological diseases.	Liver disorders, toothache, gingivitis, cold, cough, bronchitis, fever. Respiratory, digestive system, mental nervous.	Tuttolomondo et al. (2014a, 2014b) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Teucrium polium</i> L.	Wound, coagulant.	Digestive system problems. Appetizer, antidiabetic, menstrual pains, antipyretic, colic spasms, invigorating. Kidney, liver diseases, diabetes, stomach and intestine pain and inflammation. Digestive system.	Fakchich and Elachouri (2014) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ruscus aculeatus</i> L.	Digestive disorders, cardiovascular diseases, anti-spasmodic, sinusitis, psoriasis.	Asthma, shortness of breath, diuretic, anti edemic, Kidney Stones. Kidney and gall bladder stones, lack of appetite and cholesterol.	Güzel et al. (2015)
<i>Ajuga iva</i> L.Schreb	Sterility and uterus purification, memory, anti-transpiring, obesity, hormonal system, anemia, antibacterial, kidneys inflammation, cholesterol.	Carminative, stomachache, rheumatic pains, ritual practices. Cardiovascular diseases, digestive system problems, respiratory system diseases. Injury, contusion. Mental nervousness, skin.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Lavandula officinalis</i> L. <i>Lavandula latifolia</i> L.	Teeth, suckle, digestive disorders. Digestive disorders, antihypertensive, rheumatism, antiseptic, hypoglycemic, asthma and cough, anti-spasmodic, acne and wound.	Urinary system, asthma and nervous system. Pain, aphrodisiac.	Said et al. (2002) Benitez et al. (2010)
<i>Lavandula stoechas</i> L.	Depression.	Rheumatism. Digestive system problems, cholesterol regulation, diabetes. Diabetes; digestive disorder, ulcer, cough, kidney stones, hypercholesterolemia, cold, circulatory problems, rheumatism. Analgesic, Sedative, lowering cholesterol, hypotensive, expectorant. Skin, digestive, respiratory cardiovascular system, musculare diseases.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Melissa officinalis</i> L.	Respiratory system diseases, urinary system diseases, osteoarthritis and rheumatism, sunstroke, antispasmodic, wound and acne, throat pain.	Circulatory problems, nervousness, diarrhea. Stomach pains, gastritis ulcer, sedative. Stomach, intestine pain and inflammation, calming of nerves and headache Mental nervous, digestive, cardiovascular system.	Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Mentha pulegium</i> L.	Mouth and gum, tranquilizer.	Digestive disorder, gastralgia, dysmenorrhea, circulatory problems, cough, kidney stones, hyperglycemia, helminthiasis, abortive, postpartum infections. Cystitis, muscle joint pains, colic spasms. Digestive, respiratory, reproductive system.	Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Mentha x piperita</i> L.	Fever, articular pain, migraine.	Headache Mental nervousness, respiratory, digestive system.	Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Origanum majorana</i> L.	Noise, rheumatism, thyroid, respiratory system diseases, cholesterol and hypoglycemic.	Gastric pains, headache and insomnia. Digestive system problems, cancer, cardiovascular diseases. Menstruation regulator, migraine and nervous system Digestive system, others.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Laurus nobilis</i> L.	Nervous system diseases, cardiovascular diseases, hypoglycemic, tonic, dialysis.	Liver, pancreas and digestive diseases, face care. Skeleton–muscular system problems. Digestive, refreshing. Gas, cough. Skin diseases and cancer, hair loss, burns.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014a) Benitez et al. (2010) Said et al. (2002)

Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
		Skin, others, digestive, respiratory, system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	Menstruations.	Spasmolytic, stimulant and for gastric pains.	Merzouki et al. (2000)
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Hypoglycemic and cholesterol, cancer prevention, weight loss, headache, anti-inflammatory.	Laxative, diuretic and vermifuge. Digestive system problems, respiratory system problems, allergy. Antitussive, Intestinal regulation, indigestion, blood thinner.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Güzel et al. (2015)
		Respiratory, digestive system, skin.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Punica granatum</i> L.	Diseases, antiseptic, anemia, gum and teeth.	Intestinal antiseptic and hemostatic, stomatitis, peptic ulcer, eczema. Digestive system problems, dermatological problems, diabetes. Cough, pain. Digestive system, kidney.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Migraine, antimicrobial, bones, eyes, tranquilizer.	Hair tonic, emetic Dermatological problems, digestive system problems, headache. Fungal diseases, hair loss.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Güzel et al. (2015)
<i>Malva sylvestris</i> L.	Urinary system diseases, uterus pain.	Hemorrhoids, asthma, cough, common colds and analgesic. Dermatological problems, power problems. Digestive, anti-inflammatory, gastrointestinal system, gingivitis, toothache. Gastralgia, dysmenorrhea, kidney malfunction, cold, flu.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al. (2014b) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015)
		Skin, digestive, respiratory system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Syzygium aromaticum</i> L. (L.) Merr. and L.M. Perry	Urinary system diseases, tranquilizer, appetite, headache, analgesic, respiratory system diseases, hypoglycemic, stomachache.	Aphrodisiac. Mouth sores odor.	Merzouki et al. (2000) Güzel et al. (2015)
<i>Althaea officinalis</i> L.	Digestive disorders, cystitis, urinary system diseases, mouth diseases.	Circulatory problems, dermatitis. Respiratory system.	Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Myrtus communis</i> L.	Urinary system disorders, hormones, tranquilizer.	Lowering cholesterol, antidiabetic, diaper rashes, inflamed or suppurating wounds, antiseptic, mouth sores odor, antipyretic. Stomach, headache, intestine pain and inflammation.	Güzel et al. (2015) Said et al. (2002)
		Skin, digestive, respiratory system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Antibacterial, uricemia.	Sedative, analgesic, spasmolytic, cough and pulmonary diseases. Allergy, dermatological problems, Pathologies of the urinary system. Sedative. Nervousness, baldness, eye infection Antitussive, antipyretic Respiratory, digestive system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al., (2014a, (2014b Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Tonic, fractures, tranquilizer.	Diabetes, allergy, fever. Nutritional, kidney digestive, respiratory system.	Fakchich and Elachouri (2014) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Cancer prevention, urinary system, stomachache, varicose veins, articulations pain.	Antitussive, pertussis.	Güzel et al. (2015)
<i>Rhamnus alaternus</i> L. subsp. <i>Alaternus</i>	Nervous system disorders, hypoglycemic and cholesterol, dermatological problems, cancer, headache.	Liver diseases. Nutritional, digestive, cardiovascular system.	Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)

Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
<i>Nigella damascena</i> L.	Immune system, anti-inflammatory, anemia, migraine and headache, sexual tonic, rheumatism, hypoglycemic, gum, appetite, cardiovascular diseases, antispasmodic.	Carminative and menstrual pains. Pathologies of the digestive system, Pathologies of the respiratory system, allergy. Gall-bladder infection Mental nervous, respiratory system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Rosa canina</i> L.	Tranquilizer, open pores.	Eye disinfectant, eye wash, digestive.  Sensory, skin, musculare digestive, respiratory system.	Tuttolomondo et al. (2014a) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Crataegus azarolus</i> L.	Nervous system diseases, digestive disorders, diuretic, muscles relaxing, fever, cough.	Cardiovascular diseases, sexual weakness, cancer and diabetes. Cardiovascular system.	Said et al. (2002) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ruta montana</i> L.	Sterility, antimicrobial, appetite, sudorific.	Ear infection, diuretic, vermifuge, rheumatism. Digestive disorder, helminthiasis, ulcer, odontalgia chilblains, abortive.	Merzouki et al. (2000) Benitez et al. (2010)
<i>Ruta graveolens</i> L.	Rheumatism, appetite, antibiotic, antimicrobial, antispasmodic, anti-inflammatory, sexual tonic, diuretic, nervous system diseases, menstruation pain, ear pain, analgesic, cardiovascular diseases, metabolic disorders.	Intestinal worms  Digestive, respiratory system.	Tuttolomondo et al. (2014b) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Ruscus aculeatus</i> L.	Digestive disorders, cardiovascular diseases, antispasmodic, sinusitis, psoriasis.	Asthma, shortness of breath diuretic, anti-edemic, kidney Stones. Kidney and gall bladder stones, lack of appetite and cholesterol.	Güzel et al. (2015) Said et al. (2002)
<i>Salix alba</i> L.	Stomachache.	Skeleton–muscular system problems.  Hernia. Mental nervous.	Fakchich and Elachouri (2014) Benitez et al. (2010) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Thymelea hirsuta</i> (L.) Endl	Cyst, sterility.	Problems of the sphere buccodentaire, pathologies of the respiratory system. Skin diseases.	Fakchich and Elachouri (2014) Said et al. (2002)
<i>Tilia cordata</i> Mill.	Digestive disorders,  hypoglycemic, wounds, cardiovascular diseases diseases, tumors, headache.	Respiratory system, mental nervous.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Atropa belladonna</i> L.	Digestive disorders, rheumatism, analgesic, eyes, tranquilizer, sudorific, decreases salivary secretions.	stimulant and aphrodisiac.	Merzouki et al. (2000)
<i>Urtica dioica</i> L.	Thyroid problems, anemia, coagulant, suprarenal gland.	Pathologies of the urinary system, allergy, diabetes.  Anti-dandruff, rheumatism pain.  Undefined: diuretic, obesity, circulatory problems, liver disease, cold, hyperglucemia, circulatory problems, prostatism, rheumatism, hypercholesterolemia, Undefined: calcium Undefined: invigorative, baldness, sores, varicose veins. Hair loss, anti-dandruff, rheumatism pains, eczema, stomach pains, gastritis, ulcer, hemorrhoid invigorating, anticancer.  Nutritional, skin, muscular, respiratory, digestive, cardiovascular system kidney.	Fakchich and Elachouri (2014) Tuttolomondo et al., (2014a, (2014b) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Headache, teeth, menopause disorders, colopathy.	Insomnia, nervousness.	Benitez et al. (2010)
<i>Verbena officinalis</i> L.	Tranquilizer, immune system, antispasmodic, postpartum, lactation.	Hematomas, wounds.  Injury. Menstruations. Liver diseases, stomach pain, fever, menstrual cramps.	Tuttolomondo et al. (2014a) Benitez et al. (2010) Güzel et al. (2015) Said et al. (2002)

Table 6 (continued)

Plant	Medicinal use from the present study	Medicinal use from studies of other Mediterranean and neighboring regions	References
		Nutritional, skin, muscular.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Vitis vinifera</i> L.	Varices, prostate.	Helminthiasis, mouth infections, cold, baldness. Menstrual cramps and period regulation	Benitez et al. (2010) Said et al. (2002)
		Nutritional, skin, muscular respiratory, digestive system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)
<i>Datura stramonium</i> L.	Digestive system diseases, pulmonary pathologies.	Narcotic, sedative, emetic and poison.	Merzouki et al. (2000)
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Anti-inflammatory.	Aphrodisiac Pathologies of the respiratory system, cold problems, Pathologies of the digestive system.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014)
		Spasmolytic and <i>anti</i> -helminthic, seeds are placed onto fire and the smoke is directed to the nose. Fumigation is also used in ritual and magic practices. Dermatological problems, digestive system problems, skeleton–muscular system problems, skin diseases, wounds and lice.	Merzouki et al. (2000) Fakchich and Elachouri (2014)
<i>Peganum harmala</i> L.	Sudorific, blood purification, memory, respiratory system diseases.	Mental nervous, cardiovascular, digestive system.	Gonzalez-Tejero et al. (2008)

study of Mascara (Benarba et al., 2015). Gastrointestinal system diseases have been reported to have the highest ICF in other surveys such as in Pakistan (Ghulam et al., 2015), Morocco (Fakchich and Elachouri, 2014), and Italy (Tuttolomondo et al., 2014a, 2014b). The highest ICF for gastrointestinal system diseases can be explained by its high incidence in both study areas, which is probably related to an unhealthy lifestyle. The clinical signs of these diseases are common and are more easily identified by traditional healers (Punnam Chander et al., 2014), who have always focused on the maintenance of the digestive system, the dysfunction of which is associated with the most chronic and degenerative diseases. The lowest ICF values were observed for diseases of the oral cavity (0.39), followed by tumors or cancers (0.29), and finally the immune system (0.27).

### 3.7.2. Relative frequency citation (RFC)

The RFC was calculated for the most cited plant and the range was from 0.32 to 0.91 (Table 3). The plant species with the highest RFC were *Origanum glandulosum* Desf. (0.91), *Rosmarinus officinalis* L. (0.78), *Artemisia herba alba* Asso. (0.75), *Trigonella foenum-graecum* L. (0.72), *Punica granatum* L. (0.69), *Anthemis nobilis* L., *Ocimum basilicum* L., *Myrtus communis* L. (0.66), *Salvia officinalis* L., and *Nigella damascena* L. (0.62). These different plants have been cited by at least 40 informants out of 79 (more than half of the informants); they represent the most common and solicited medicinal plants by the population of the two cities of Constantine and Mila.

### 3.7.3. Fidelity level (FL)

FL has been calculated for the most cited plants (50 plants), and we considered those plants whose FL was between 50 and 100 (42 plants) as important and significant (Table 7). Four out of fourteen disease categories consists of plants having an FL lower than 50 (infectious diseases, inflammations, tumors or cancer, eye infections, and problems of the oral sphere). Only one plant had the highest FL of 100%: *Tilia cordata* Mill was used for nervous system diseases, unlike some other studies in which the number of plants with an FL of 100% was higher (Tahira et al., 2015; Benarba et al., 2015; Ghulam et al., 2015); the same plant was indicated to be used for mental nervous system in another survey carried out in Spain (Gonzalez-Tejero et al., 2008). However, four plants had a

high FL (between 93.09 and 96.67). Two of them were used to treat gastrointestinal system diseases: *Artemisia herba alba* Asso. with an FL of 95.74% and *Punica granatum* L. with an FL of 93.09%, while the FL of the latter (in the same category) was lower in the Mascara survey (50%). It is also indicated to be used for the digestive system in another Algerian survey and Albania (Gonzalez-Tejero et al., 2008). *Eucalyptus globules* Labill was used for respiratory system diseases having an FL of 93.93%; the same plant in the same category had an FL of 100% in the survey of Mascara (Benarba et al., 2015) and had the same use in Albania (Gonzalez-Tejero et al., 2008), and finally *Aloe* sp. L. with an FL of 96.67% had use in skin diseases. Four categories of disease, each containing one single plant with an FL equal to 50 or more, are observed: *Crataegus oxyacantha* L. with an FL of 86.66% for cardiovascular diseases, followed by *Origanum majorana* L. with an FL of 70.97%, *Thapsia garganica* L. with an FL of 58.62%, and finally *Crocus sativus* L. with an FL of 51.85% for articular system diseases, traumatic injuries, and immune system. The high fidelity of medicinal plants confirmed the preference of the use of these plants more than the others used in the same category and their frequent use by informants of the two areas studied.

### 3.7.4. Use value (UV)

In this study, the UV range was from 0.115 to 2.280; the species having high UV were *Origanum glandulosum* Desf (2.280) and *Anthemis nobilis* L. (2.244), followed by *Lavandula officinalis* L. (2.143) and finally *Rosmarinus officinalis* L. (2.040). The high UV of each plant implies that these plants are the most recommended, used, and known by the informants, which implies the importance of plants. However, least UVs were reported for *Laurus nobilis* L. and *Eucalyptus globulus* L. with UV of 0.115; this low UV can be explained by the fact that the informants possess limited knowledge of the therapeutic uses of these plants or that they only mention the most known and effective uses.

## 4. Conclusion

The present ethnobotanical and pharmacological survey is the first one in Constantine and Mila (Northeast Algeria), which could contribute in safeguarding world cultural heritage as well as

**Table 7**

Fidelity level values for the most cited plants.

Ailment Category	Plants	FL (%)
Gastrointestinal system diseases	<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	73.68
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	71.43
	<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	95.74
	<i>Punica granatum</i> L.	93.09
	<i>Anthemis nobilis</i> L.	51.22
	<i>Myrtus communis</i> L.	80.49
	<i>Laurus nobilis</i> L.	54.54
	<i>Mentha pulegium</i> L.	57.57
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	81.25
	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	81.25
	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	68.75
	<i>Origanum majorana</i> L.	51.61
	<i>Ajuga iva</i> L.Schreb	50
	<i>Anethum graveolens</i> L.	92
<i>Ecballium elaterium</i> (L.). A. Rich.	62.50	
Respiratory system diseases	<i>Cupressus sempervirens</i> L.	52.38
	<i>Mentha x pulegium</i> L.	75
	<i>Ruta montana</i> L.	50
	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	93.93
Articular system diseases and traumatic injuries	<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) Lag.	62.50
	<i>Cupressus sempervirens</i> L.	57.14
	<i>Thapsia garganica</i> L.	58.62
Urinary system, gynecologic, and reproductive diseases	<i>Parietaria officinalis</i> L.	83.33
	<i>Spergularia rubra</i> (L.) J. Presl & C. Presl.	88.23
Cardiovascular diseases	<i>Hordeum vulgare</i> L.	74.19
	<i>Origanum majorana</i> L.	70.97
Metabolic system	<i>Crataegus oxyacantha</i> L.	86.66
	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	65.62
Nervous system diseases	<i>Ajuga iva</i> L.Schreb	78.57
	<i>Zygophyllum cornutum</i> Coss.	65
Immune system	<i>Tilia cordata</i> Mill.	100
	<i>Crocus officinalis</i> L.	51.85
Skin diseases	<i>Lawsonia inermis</i> L.	50
	<i>Aloe</i> sp. L.	96.67
General health	<i>Ricinus communis</i> L.	76.66
	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	66.66
	<i>Salvia officinalis</i> L.	52.50
	<i>Mentha viridis</i> (L.)L.	53.85
	<i>Lavandula officinalis</i> L.	51.43
	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	60.60
	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	50
	<i>Peganum harmala</i> L.	57.14
<i>Marrubium vulgare</i> L.	57.14	

gathering precious information to create a national database and enrich those already existing, contributing through writing Algerian pharmacopeia, which is still transmitted orally.

The results of this survey showed basically that herbalists and the local population have important and considerable knowledge as indicated by the variety of species used to treat several ailments, which can be a precious source for gathering more ethnobotanical and pharmacological information in the Mediterranean region and compare how civilizations and traditions may affect the whole basin's herbal knowledge; this can also serve science in many fields: pharmacy, medicine, biology, and chemistry.

Finally, we would like to take the opportunity to advise local authorities that the concept of pharmacovigilance should be applied to natural drugs as has been done for synthetic ones; consequently, herbal medicine should have regular quality and clinical controls by approved regulatory organizations to prove their efficacy and safe use.

## Acknowledgments

We would like to thank all the people who helped in gathering information for questionnaires (herbalists and local population) and botanical data (La Conservation des Forest) of Constantine and Mila. We also thank Dr. Eric Manoury for revising the English version of the article.

## Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.08.016>.

## References

- Akerreta, S., Cervero, R.Y., Calvo, M.I., 2007. First comprehensive contribution to medical ethnobotany of Western Pyrenees. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3, 26.
- Al-Qura'n, S., 2009. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. *An ethnopharmacology survey. J. Ethnopharmacol.* 123, 45–50.
- Andrade-Cetto, A., 2009. Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlan-chinol, Hidalgo, México. *J. Ethnopharmacol.* 122, 163–171.
- Andrien, J., 2013. *Flore de la Région de Constantine*, ed. Forgotten Books (Original work published 1894), London.
- Asgarpanah, J., Kazemivash, N., 2012. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Coriandrum sativum* L. *J. Pharm. Pharmacol.* 6 (31), 2340–2345.
- Baba Aissa, F., 1991. Medicinal plants in Algeria, in Bouchène and Ad. Diwan (Eds.), Identification, description of active ingredient properties and traditional use of common plants in Algeria, Algiers, pp.1–181.
- Battandier, J.A., Trabut, L.C., 1888. *Flore de l'Algérie, Ancienne flore d'Alger transformée*, ed. Adolphe Jourdan, Alger.
- Battandier, J.A., Trabut, L.C., 1893. *Flore de l'Algérie*, ed. Adolphe Jourdan, Alger.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, 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.
- Benitez, G., Gonzalez Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): ethnopharmacological synthesis. *J. Ethnopharmacol.* 129, 87–105.
- Bersin, T., Muller, A., Schwarz, H., 1955. Ingredients of *Crataegus oxyacantha* L. III. Heptahydroxyflavan glycoside. *Arzneimittelforschung* 5 (8), 490–491.
- Bilia, A.R., Eterno, F., Bergonzi, M.C., Mazzi, G., Vincieri, F.F., 2007. Evaluation of the content and stability of the constituents of mother tinctures and tinctures: the case of *Crataegus oxyacantha* L. and *Hieracium pilosella* L. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44 (1), 77–78.
- Blackwell, W.H., 1990. *Poisonous and Medicinal Plants*. Prentice-Hall International, Inc, Englewood Cliffs, New Jersey (USA).
- 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.
- Boga, M., Kolak, U., Topcu, bG., Bahadori, F., Kartal, M., Farnsworth, Norman R., 2011. Two new indole alkaloids from *Vinca herbacea* L. *J. Phytochem. Lett.* 4, 399–403.
- Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes Médicinales*. Tec & Doc, Paris.
- Carnat, A.P., Carnat, A., Fraisse, D., Lamaison, J.L., 1998. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa of Sicina Zis L.* subsp. *Of Sicalis*) tea. *J. Pharma Acta Helv.* 72, 301–305.
- Carrió, E., Vallès, J., 2012. Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). *J. Ethnopharmacol.* 14, 1021–1040.
- De Tommasi, N., Piacente, S., Gacs-Baitz, E., De Simone, F., Pizzi, C., Aquino, R., 1998. Triterpenoidsaponins from *Spergulariaramosa*. *J. Nat. Prod.* 61, 323.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2010. *Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord*, 4 Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2011. *Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord*, 4Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2012. *Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord*. Genève, 4Volumes, Conservation des jardins botaniques, Genève.
- Fakchich, J., Elachouri, M., 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.* 154, 76–87.
- Fernandez, M., Vega, F.A., Arrupe, T., Renedo, J., 1971. Flavonoids of Squill, *Urginea maritima*. *J. Phytochem. Rep.* 11, 1534.
- 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.

- Ghulam, Y., Mushtaq, A., Shazia, S., Alharrasi, A., Javid, H., Zafar, M., Rehman, S., 2015. Ethnobotany of medicinal plants in the Thar Desert (Sindh) of Pakistan. *J. Ethnopharmacol.* 163, 43–59.
- Giday, M., Asfaw, Z., Woldu, Z., 2009. Medicinal plants of the Meinit ethnic group of Ethiopia: an ethnobotanical study. *J. Ethnopharmacol.* 124, 513–521.
- Gonzalez-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Houmanie, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchi, M., El-Johrig, S., 2008. Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol.* 116, 341–357.
- Güzel, Y., Güzelşemme, M., Miski, M., 2015. Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: a multicultural district in Hatay Province of Turkey. *Ethnopharmacology* 174, 118–152.
- Hammiche, V., Maiza, K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol.* 105, 358–367.
- Hayashi, T., Yamagishi, T., 1988. Two xanthone glycosides from *Gentiana lutea*. *J. Phytochem.* 27, 3696–3699.
- Hedges, S.H., Herbert, R.B., 1981. 8-N-methylornithine: a natural constituent of *Aatropha belladonna*. *Phytochemistry* 20, 2064–2065.
- Heinrich, M., Anklí, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O., 1998. Medicinal plants in Mexico: healers's consensus and cultural importance. *Soc. Sci. Med.* 47, 1859–1871.
- Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Seddik, A., Jana, M., 1999. Hypoglycaemic response to *Zygodiumgaetulum* extracts in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol.* 64, 211–217.
- Jouad, H., Lemhadri, A., Maghrani, M., Zeggwagh, N.A., Eddouks, M., 2003. Cholesterol-lowering activity of the aqueous extract of *Spergulariapurpurea* in normal and recent-onset diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 87, 43–49.
- Kaddem, S.E., 1990. Les plantes médicinales en Algérie, ed. Bouchène, Oued Zenati, Algérie.
- Kadir, M.F., Bin Sayeed, M.S., Mia, M., 2012. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by indigenous and tribal people in Rangamati, Bangladesh. *J. Ethnopharmacol.* 144, 627–637.
- Kadir, M.F., Bin Sayeed, M.S., Mia, M., 2013. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by traditional healers in Bangladesh for gastrointestinal disorders. *J. Ethnopharmacol.* 147, 148–156.
- Kayani, S., Ahmad, M., Sultana, S., Khan Shinwari, Z., Zafar, M., Yaseen, G., Hussain, M., Bibi, T., 2015. Ethnobotany of medicinal plants among the communities of Alpine and Sub-alpine regions of Pakistan. *J. Ethnopharmacol.* 164, 186–202.
- Khaled khoudjaa, N., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *J. Ind. Crops Prod.* 52, 177–182.
- Kiss, T., Orvos, P., Bánsághi, S., Forgo, P., Jedlinszki, N., Tálósi, L., Hohmann, J., Csupor, D., 2013. Identification of diterpene alkaloids from *Aconitum napellus* subsp. *Firmum* and GIRK channel activities of some *Aconitum* alkaloids. *Fitoterapia* 90, 85–93.
- Magwede, K., Tshisikhawe, M.P., Luseba, D., Bhat, R.B., 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in treatment of ticks. *Int. J. Exp. Bot.* 83, 155–165.
- Malinowska, P., 2013. Effect of flavonoids content on antioxidant activity of commercial cosmetic plant extracts. *Herba Pol.* 6, 64–75.
- Maulidiani, Abas, F., Khatib, A., Shaari, K., Laijs, N.H., 2014. Chemical characterization and antioxidant activity of three medicinal Apiaceae species. *J. Ind. Crops Prod.* 55, 238–247.
- Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J., 2000. Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *J. Fitoter.* 71, 278–307.
- Milos, M., Mastelic, J., Jerkovic, I., 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*). *I. Food Chem.* 71, 79–83.
- Musa, M.S., Abdelrasool, F.E., Elsheikh, E.A., Ahmed, L., Mahmoud, A.E., Yagi, S.M., 2011. Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State, South-eastern Sudan. *J. Med. Plants Res.* 5, 4287–4297.
- Mood, S.G., 2008. A contribution to some ethnobotanical aspects of Birjand flora (Iran). *Pak. J. Bot.* 40, 1783–1791.
- Nabaweya, A.I., El-Seedi, H.R., Desoky Mohammed, M.M., 2007. Phytochemical investigation and hepatoprotective activity of *Cupressus sempervirens* L. leaves growing in Egypt. *J. Nat. Prod. Res.: Former. Nat. Prod. Lett.* 21, 857–866.
- Parada, M., Carrió, E., Bonet, M.A., Vallès, J., 2009. Ethnobotany of the Alt Empordà region (Catalonia, Iberian Peninsula) Plants used in human traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.* 124, 609–618.
- Pardo de Santayana, M., Tardío, J., Blanco, E., Carvalho, A.M., Lastra, J.J., San Miguel, E., Morales, R., 2007. Traditional knowledge of wild edible plants used in the northwest of the Iberian Peninsula (Spain and Portugal): a comparative study. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3, 27.
- Pellati, F., Bruni, R., Bellardi, M.G., Bertaccini, A., Benvenuti, S., 2009. Optimization and validation of a high-performance liquid chromatography method for the analysis of cardiac glycosides in *Digitalis lanata*. *J. Chromatogr. A* 1216, 3260–3269.
- Pieroni, A., Giusti, M.E., de Pasquale, C., Lenzarini, C., Censorii, E., Gonzalez-Tejero, M.R., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Hmamouchi, M., El-Johrig, S., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Al-Shahaby, O., Houmani, Z., Mekios, S., 2006. Circum Mediterranean cultural heritage and medicinal plant uses in traditional healthcare: a field survey in eight selected areas within the RUBIA project. *J. Ethnopharmacol.* 116, 341–357.
- Poutaraud, A., Girardin, P., 2002. Alkaloids in Meadow Saffron, *Colchicum autumnale* L. *J. Herbs Spices Med. Plants* 9, 63–79.
- Prakash, C., Phondani, A., Bhatt, E., Elsarrag, Y.A., Horri, 2015. Ethnobotanical magnitude towards sustainable utilization of wild foliage in Arabian Desert. *J. Ethnopharmacol.* . <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcm.2015.03.003>
- Punnam Chander, M., Kartick, C., Gangadhar, J., Vijayachari, P., 2014. Ethnomedicine and health care practices among Nicobarese of Car Nicobar An indigenous tribe of Andaman and Nicobar Islands. *J. Ethnopharmacol.* 158, 18–24.
- Quezel, P., Santa, S., 1962&1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, 2Tomes. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- Rey, J.P., Levesque, J., Pousset, J.L., 1992. Analytical studies of isorhoeadine and rhoegenine in petal extracts of *Papaver rhoeas* L. using high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 596, 276–280.
- Rizk, A.M., Rimpler, H., 1972. Isolation of daphnoretin and  $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glucoside from *Thymelea hirsuta*. *Phytochemistry* 11, 473–475.
- Rosenthal, J.P., 2006. Politics, culture, and governance in the development of prior informed consent in indigenous communities. *Curr. Anthropol.* 47, 119–142.
- Said, O., Khalil, K., Fulder, S., Azaizeh, H., 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Ethnopharmacological synthesis. J. Ethnopharmacol.* 83, 251–265.
- Sarri, M., Mouyeta, F.Z., Benziane, M., Cherieta, A., 2014. Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria). *J. Pharm. Pharmacogn. Res.* 2 (2), 31–35.
- Shaw, D., Graeme, L., Duez, P., Williamson, E., Chan, K., 2012. Pharmacovigilance of herbal medicine. *J. Ethnopharmacol.* 140 (3), 513–518.
- Tahira, B., Mushtaq, A., Rsool Bakhsh, T., Niaz, M., Rukhsana, J., UrRehman, S., Shazia, S., Zafar, M., Ghulam, Y., 2015. Ethnobotany of medicinal plants in district Mastung of Balochistan province-Pakistan. *J. Ethnopharmacol.* 157, 79–89.
- Telefo, P.B., Moundipa, P.F., Tchouagner, F.M., 2004. Inductive effects of the leaf mixture extract of *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Dicliptera verticillata* and *Hibiscus macranthus* on in vitro production of oestradiol. *J. Ethnopharmacol.* 90, 225–230.
- Trotter, R.T., Logan, M.H., 1986. Informant consensus: a new approach for identifying potentially effective medicinal plants. In: Etkin, N.L. (Ed.), *Plants in Indigenous Medicine and Diet*. Redgrave Publishing Company, Bedford Hills, New York, pp. 91–112.
- Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M.L., Venturella, G., La Bella, S., 2014a. Ethnobotanical investigation on wild medicinal plants in the Monti Sicani Regional Park (Sicily, Italy). *J. Ethnopharmacol.* 153, 568–586.
- Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M.L., Venturella, G., La Bella, S., 2014b. Popular uses of wild plant species for medicinal purposes in the Nebrodi Regional Park (North-Eastern Sicily, Italy). *J. Ethnopharmacol.* 157, 21–37.
- Verma, S.K., Jain, V., Verma, D., Khamesra, R., 2007. *Crataegus oxyacantha*-a Cardio-protective Herb. *J. Herb. Med. Toxicol.* 1; , pp. 65–71.
- Vitalini, S., Iriti, M., Puricelli, C., Ciuchi, D., Segale, A., Fico, G., 2013. Traditional knowledge on medicinal and food plants used in Val San Giacomo (Sondrio, Italy) An alpine ethnobotanical study. *J. Ethnopharmacol.* 145, 517–529.
- Wang, Z., Hu, J., Du, H., He, S., Li, Q., Zhang, H., 2016. Microwave-assisted ionic liquid homogeneous liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of anthraquinones in *Rheum palmatum* L. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 125, 178–185.
- Yemele, M.D., Telefo, P.B., Lienou, L.L., Tagne, S.R., Fodouop, C.S.P., Goka, C.S., Lemfack, M.C., Moundipa, F.P., 2015. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for pregnant women's health conditions in Menoua division-West Cameroon. *J. Ethnopharmacol.* 160, 14–31.

**Acta Scientifica Naturalis**

Former Annual of Konstantin Preslavsky University of Shumen: Chemistry, Physics, Biology,

 Geography Journal homepage: [asn.shu.bg](http://asn.shu.bg)
**Chemical profiling and *in vitro* antioxidant, antibacterial and anticholinesterase activities of an endemic North African species *Bellevalia mauritanica* Pomel**
**Rayene Ouelbani<sup>a</sup>, Souheir Bensari<sup>a</sup>, Mustafa Abdullah Yilmaz<sup>c,d</sup>, Chawki Bensouici<sup>b</sup>,**
**Esma Gökalp<sup>d</sup>, Meroua Ahmedchaouch<sup>f</sup>, Douadi Khelifi<sup>a,e,\*</sup>**

<sup>a</sup>*Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales GBBV, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine1, Route d'Aïn El Bey 25017 Constantine, Algérie*

<sup>b</sup>*Laboratoire de biochimie, Centre National de Recherches en biotechnologies CRBt. Ali Mendjli Nouvelle Ville, UV 03. Constantine Algérie*

<sup>c</sup>*Dicle University Science and Technology Research and Application Center, Dicle University, 21280 Diyarbakir, Turkey*

<sup>d</sup>*Dicle University, Faculty of Pharmacy, 21280, Diyarbakir, Turkey*

<sup>e</sup>*Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie. Cité administrative Ali Mendjeli, Nouvelle ville. La Nouvelle Ville Ali Mendjeli, Constantine. Algérie*

<sup>f</sup>*Unité de recherche: Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques, Université Frères Mentouri, Constantine 1, Route d'Aïn El Bey 25017 Constantine, Algérie*

**Abstract:** *The aim of this study was to evaluate antioxidant, antibacterial, and anticholinesterase activities of different extracts of an uninvestigated endemic species *Bellevalia mauritanica* Pomel, and identification of its phenolic and flavonoid content by a comprehensive and validated LC-MS/MS method using 37 phytochemical standards. Moreover, the phytochemical profiling of the studied extracts was accomplished by LC-MS-IT-TOF technique. Among all the tested extracts, ethyl acetate (EtOAc) of BRCE (bulbs-roots crude extract) was the most active one. It exhibited a medium antibacterial activity, good inhibition of acetylcholinesterase and a good antioxidant activity in ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-*



ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), DPPH (1,1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical), and superoxide DMSO (dimethyl sulfoxide) alkaline scavenging assays. LC-MS/MS analysis revealed that EtOAc extract had caffeic acid (1240.7 µg/g extract) and chloroform extract had vanillin (2048.5 µg/g extract) in considerable amounts. They also contained good amounts of certain phytochemicals such as protocatechuic acid (274.3 and 145.2 µg/g extract), p-coumaric acid (382.8 and 310.9 µg/g extract), ferulic acid (361.2 and 969.4 µg/g extract) and kaempferol (146.7 and 150.6 µg/g extract) respectively. LC-MS-IT-TOF screening revealed the presence of 91 major phytochemicals in the three extracts derived from bulb-roots crude extract.

**Keywords:** *Bellevalia mauritanica* Pomel; antioxidant; acetylcholinesterase; antibacterial; LC-MS/MS; LC-MS-IT-TOF

## Introduction

People in developing countries have been, so far, referring to traditional practices by using plant extracts to cure themselves [1]. Medicinal plants represent the main source of active compounds as they contain hundreds of molecules as a mixture that should be screened to find the desired phytoconstituents for drug discovery [2, 3].

The fact that synthetic antioxidants used in several pharmaceutical products [4], are considered harmful to the human health [5], justifies efforts for replacing them with natural antioxidant molecules. The abundant reactive species of oxygen (ROS) in our environment, can cause various pathologies [6]. Since synthetic anti-Alzheimer drugs have adverse effects such as hepatotoxicity [7], scientists are eager to search for new natural compounds with potent anti-Alzheimer properties.

In addition, the fact that the genetic, metabolic and physiological diversity of microbial species is constantly changing, they pose a great threat to the health of populations around the world. Antibiotic resistance is constantly evolving and requires the search of new antimicrobial agents that can be an alternative to these antibiotics. Plant-based natural products offer a promise in this sense [8].

*Bellevalia mauritanica* Pomel, endemic to North Africa, extends from Libya to Morocco via Tunisia and Algeria [9] and belongs to the *Bellevalia* genus whose species are distributed on three different phytogeographical regions: Irano-Turanian, Mediterranean and Saharo-Sindian. Being represented by 4 sections with 45 species, the genus belongs to the Asparagaceae family and the Scilloideae (*sensu* APG III) subfamily [10].

Members of the *Bellevalia* genus are pharmacologically important due to their homoisoflavonoid content which is quite bioactive [11]. These biomarkers were isolated from organic bulb extracts of *B. romana* L., *B. eigii* Feinbrun and *B. flexuosa* Boiss. [12, 13, 14] and were tested for their cytotoxic and

antibacterial activities. Another type of secondary metabolites, norterpeneoids were isolated from methanol bulb extract of *B. romana* L. [15]. No ethnobotanical information was found about *B. mauritanica* according to the literature. However, three species were reported to be used in culinary preparation in Turkey; *B. speciosa* Woronow ex Grossh, *B. paradoxa* (Fisch. & C.A.Mey.) Boiss., and *B. sarmatica* (Pall. ex Georgi) Woronow [16, 17]. Therefore, the present study aims to screen the antioxidant, anti-cholinesterase and antibacterial activities of an uninvestigated endemic plant (*B. mauritanica* Pomel) as well as its phytochemical contents by a previously validated LC-MS/MS method [18]. Besides, phytochemical contents of the studied extracts of the species were screened by liquid chromatography ion trap/time of flight mass spectrometry (LC-ESI-IT-TOF-MS).

## Materials and methods

### Plant material

Bulbs and roots as well as aerial parts of *Bellevalia mauritanica* Pomel were collected from Ibn ziad township N36° 21. 807' and E06° 28.661' at 681 m in the city of Constantine, and identified by Dr Gérard de Bélair, University of Badji Mokhtar Annaba, Faculty of Nature and Life Sciences (Voucher specimen No. 107\_43).

### Preparation of extracts and samples for LC-MS/MS analysis

Air dried and frozen powdered parts (aerial and bulbs-roots) were extracted with ethanol-water (80:20). Then, the crude extract of bulbs-roots was subjected to liquid-liquid extraction with chloroform, ethyl acetate and 1-butanol. Extracts were dissolved in methanol at a concentration of 1 g/L and filtered through microfilter (0.2 µm) prior to the LC-MS/MS and LC-MS-IT-TOF analyses.

### Chemicals and apparatus used in bioactivity studies

The bioactivity measurements were performed on a 96-well microplate reader (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire) at the National Center of Biotechnology Research. Gallic acid, Folin-Ciocalteu's Reagent (FCR), aluminum trichloride, 1,1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), butylatedhydroxytoluene (BHT), ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, butylatedhydroxyanisole (BHA), dimethyl sulfoxide (DMSO), diammonium salt (ABTS), nitro blue tetrazolium (NTB), neocuproine 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid), butyrylcholinesterase from horse serum (BChE, EC 3.1.1.8, 7.8 U/mg, Sigma), acetylcholinesterase from electric eel (AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 827.84 U/mg, Sigma), acetylthiocholine iodide, S-butrylthiocholine iodide, galantamine, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid (DTNB), anis aldehyde, sulfuric acid, and glacial acetic acid were obtained from Sigma Aldrich (Stern-heim, Germany). Potassium persulfate, copper (II) chloride and sodium carbonate were obtained from Biochem Chemopharma. All other chemicals and solvents were of analytical grade. Antibiotics were obtained from Titan Media, India.

### LC-IT-TOF-MS conditions

The qualitative identification of phytochemical constituents was carried out using a Shimadzu LC-MS-IT-TOF instrument. This instrument is a combination of ultra-high performance liquid chromatograph (U-HPLC) and IT-TOF-MS, a high-resolution mass spectrometer. The U-HPLC system was composed of an autosampler (SIL-20AC), a gradient pump, (LC-20AD), a degasser (DGU-20A3), a column oven (CTO-20AC) and a communication bus module (CBM-20A). An Agilent Eclipse XDB model reversed phase chromatography column (150 mm, 4.6 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ) was used for the separation of analytes. The mobile phase flow rate, the column temperature and the injection volume were optimized as 35C, 0.35 mL/min and 4  $\mu\text{L}$ . The mobile phase consisted of A (aqueous 5 mM ammonium formate with 0.1% formic acid) and B (acetonitrile with 0.1% formic acid). The following gradient elution profile was used: 7.5% B (0-5 min), 7.5-95% B (5-45 min), 95% B (7 min), 7.5% B (13 min). The hybrid high resolution mass spectrometer used (IT-TOF-MS) possessed an electrospray ionization (ESI) source operating in both negative and positive ionization modes. The optimized mass spectrometer (MS) conditions were as follows: positive and negative ionization modes; drying gas ( $\text{N}_2$ ) pressure, 100 kPa; nebulizer gas ( $\text{N}_2$ ) flow rate, 1.5 L/min; heater block temperature, 200C; CDL (curved desolvation line) temperature, 200° C; electrospray voltage, 4.5 kV; detector voltage, 1.63 kV; mass range,  $m/z$  100–1000 (MS1); IT pressure,  $1.8 \times 10^4$  Pa; TOF pressure,  $1.4 \times 10^4$  Pa; ion accumulation time, 30 msec. LC-MS Solution Version 3.4.1 (Shimadzu, Japan) software and Formula Predictor Software were used to analyze the obtained data.

### LC-MS/MS (chromatography Tandem Mass Spectrometry) Instrument and Chromatographic Conditions

For this analysis, the extracts were dissolved in methanol at a concentration of 1 g/L into 2 ml-vials and filtered with a microfilter (0.2  $\mu\text{m}$ ) for LC-MS/MS analysis. The phytochemical quantification of the extracts was performed by a previously developed and validated LC-MS/MS method.<sup>[21]</sup> The LC-MS/MS system consisted of a Shimadzu U-HPLC combined with a Shimadzu LCMS triple quadrupole mass spectrometer (8040 model). The U-HPLC comprised a gradient pump (LC-30 AD model), a degasser (DGU-20A3R model), a column oven (CTO-10ASvp model) and an autosampler (SIL-30AC model). The chromatographic separation was performed on a RPC18 Inertsil (ODS-4 model) reversed phase column (100 mm  $\times$  2,1 mm, 2  $\mu\text{m}$ ). The column temperature was kept at 35°C throughout the analysis. The mobile phases consisted of A (water; 10 mM ammonium formate, 0.1% formic acid) and B (acetonitrile; 0.1% formic acid). The applied gradient profile was optimized as 5-20% B (0-10 min), 20% B (10-22 min), 20-50% B (22-36 min), 95% B (36–40 min) and 5% B (40–50 min). The flowrate of the mobile phase and the injection volume were optimized as 0.25 mL/min and 4  $\mu\text{L}$ , respectively. The optimum ESI parameters for the mass spectrometer were as follows: 350°C interface temperature, 250°C DL temperature, 400°C heat

block temperature and 3 L/min and 15 L/min were nebulizer and drying gas (N<sub>2</sub>) flowrates, respectively [18].

### **Determination of phenolic content**

#### *Total phenolic content*

The total phenolic contents of the studied extracts were determined using FCR (Folin-Ciocalteu) according to the method of Vernon et al. [19]. The calculation of the content was expressed as gallic acid equivalent (GAEs) using the equation below:

$$Y=0.007 [\text{GAEs}] +0.116 \quad r^2= 0.994$$

#### *Total flavonoids content*

The total flavonoids contents of the studied extracts were assessed using aluminum nitrate method [20]. The calculation of the content was expressed as quercetin equivalent (QEs) using the equation below:

$$Y= 0.009 [\text{QEs}] +0.063 \quad r^2=0.997$$

### **Antioxidant activity assessment**

#### *DPPH' free radical-scavenging activity assay*

The free radical-scavenging activity was determined spectrophotometrically by the DPPH' assay according to Blois Blois [21] with slight modifications. In this method, ethanol was used as negative control and  $\alpha$ -tocopherol and BHA were used as positive control. The results were expressed as IC<sub>50</sub> values and were graphically calculated from the DPPH' scavenging effect percentage against the sample concentration.

$$(\text{DPPH}') \% \text{ inhibition} = 100 - (A \text{ sample} / A \text{ control} \times 100)$$

#### *ABTS<sup>•+</sup> radical decolorization assay*

ABTS<sup>•+</sup>-scavenging activity measurements were carried out using the method of Re et al. [22] with slight modifications. Water was used as negative control and BHA and BHT were used as positive control standards. The results were given as the IC<sub>50</sub>, that was graphically calculated from the ABTS<sup>•+</sup> scavenging effect percentage against the sample concentration.

$$(\text{ABTS}^{\bullet+}) \% \text{ inhibition} = 100 - (A \text{ sample} / A \text{ control} \times 100)$$

#### *Superoxide DMSO alkaline scavenging assay*

The superoxide anion radical-scavenging activity of extracts was determined according to Kunchandy and Rao [23] with slight modifications. IC<sub>50</sub> values were used to express the results and they were graphically calculated from the activity percentage against the sample concentration.

$$(\text{superoxyde DMSO alkaline}) \% \text{ inhibition} = 100 - (A \text{ sample} / A \text{ control} \times 100)$$

### *Cupric reducing capacity assay (CUPRAC)*

The CUPRAC antioxidant activity was assessed according to the study conducted by Apak et al. [24] with slight modifications. The results were given as  $A_{0.50}$  which corresponds to the concentration producing 0.500 absorbance. It was calculated graphically from the cupric reducing antioxidant capacity absorbance, against the sample concentration. BHT and BHA were used as standard antioxidants to compare the activity.

### **Evaluation of anticholinesterase activity**

The measurement of butyrylcholinesterase (BChE) and acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activities, were assessed by the spectrophotometric method, developed by Ellman et al. [25] Galantamine was used as reference cholinesterase inhibitory standard and the results were given as the 50% inhibition concentration ( $IC_{50}$ ).  $IC_{50}$  values were calculated from the graph of the enzyme-inhibition percentage, against the sample concentration.

$$(\text{AChE}) \% \text{ inhibition} = 100 - (A \text{ sample} / A \text{ control} \times 100)$$

### **Evaluation of antibacterial activity**

#### *Microbial strains and inoculums preparation*

Seven bacterial strains; *Morganella morganii* (ATCC 25830), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) and *Proteus vulgaris* (ATCC 29905) were obtained from Pasteur Institute (Algiers, Algeria). Previously conserved strains in glycerol (80%) were revived and inoculated in Nutritive gel (Pasteur institute, Algeria) at 37°C. After 24 h of incubation, suspensions were prepared by introducing 4-5 pure colonies in test tubes containing (0.9% NaCl) and well shaken by vortex. Inocula were set to 0.5 McFarland which corresponds to optical density from 0.08 to 0.10.

Many pathogenic bacteria put human's health in great danger such as: *Staphylococcus aureus* Methicillin-resistant (MRSA) which was first detected in 1961 (Britain) and has been known to be a “common” bacterium until now; *Pseudomonas aeruginosa* which has a fast propagation rate throughout the world, causes complicated skin, hospital-acquired pneumonia and soft tissue infections (cSSTI); *Escherichia coli* which affects the urinary tract and causes intra-abdominal infections (IAI) [8]; *Citrobacter freundii* which causes brain abscess and neonatal meningitis [26], *Proteus vulgaris*, a nosocomially acquired agent, which may cause pyelonephritis [27], *Morganella morganii* which causes systemic infections [28]. Moreover, the inappropriate use of antibiotics leads to drug resistance. For this reason, it will be necessary to focus research on the discovery of new drugs such as secondary metabolites of plants.

### *Disc diffusion method*

Sterile discs of Wattman paper (5 mm) were first soaked with 10  $\mu$ l of each dilution and then sterilely placed on the surface of Mueller Hinton agar (4 mm of thickness), previously sown with microbial strains. A DMSO-soaked disc was used as a control; the discs were allowed to diffuse for 1 hour at 4°C and all the dishes were incubated for 24h at 37°C [29]. All the extracts were tested against the seven bacterial strains and seven dilutions were realized from 100 mg/ml of plant extracts. All extracts and dilutions were sterilized using micro filters (0.22  $\mu$ m).

### **Statistical analysis**

All the results were represented as mean  $\pm$  SD and were evaluated using paired t-test for antiacetylcholinesterase activity and ANOVA variance analysis for antioxidant activity using GraphPad Prism software, version 7.0.  $P < 0.05$  were considered as significant.

## **Results and Discussion**

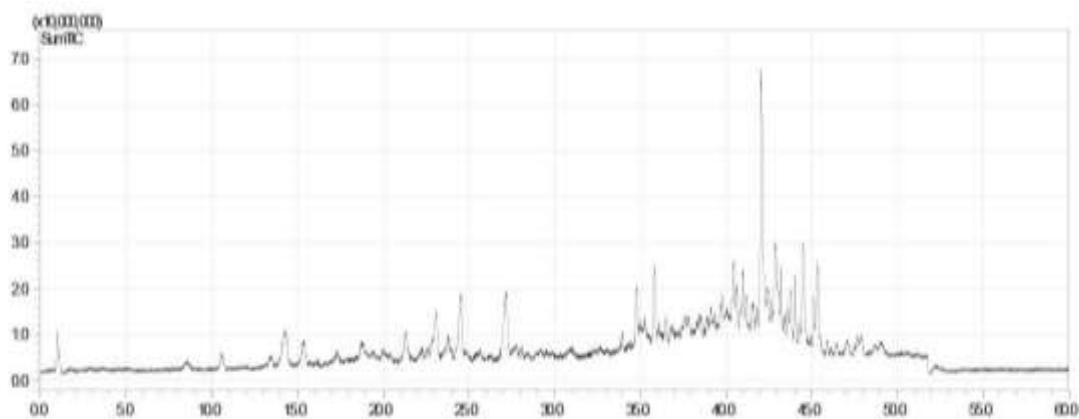
### **Phenolics and flavonoids contents**

Total phenolic (TPC) and total flavonoid contents (TFC) of the  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc, and BuOH extracts of *B. mauritanica* Pomel were assessed by Folin-Ciocalteu reagent.  $\text{CHCl}_3$  extract contained the highest amount of TPC and TFC followed by BuOH and EtOAc (Table 3).

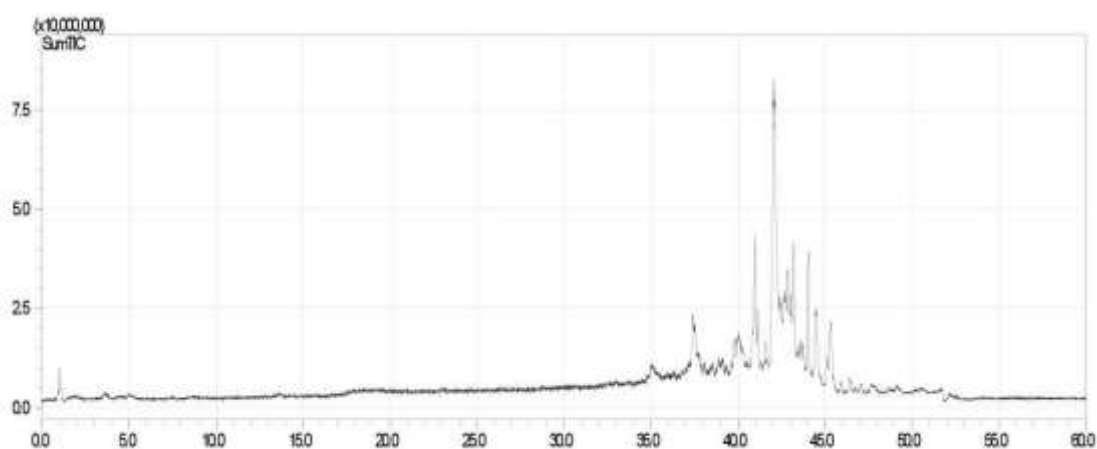
### **LC-MS-IT-TOF results**

LC-MS-IT-TOF technique is essential for screening of plant constituents (alkaloids, terpenes, saponins... etc). Indeed, its results help to determine and to target contents of analyzed extracts, before carrying out isolation [30]. However, screening of studied plant extracts by LC-MS-IT-TOF is insufficient. Therefore, isolation and structural characterization by NMR are necessary, especially to identify phytochemicals responsible of biological activity. However, this prescreening is useful for the considered species, as it has not been well studied before.

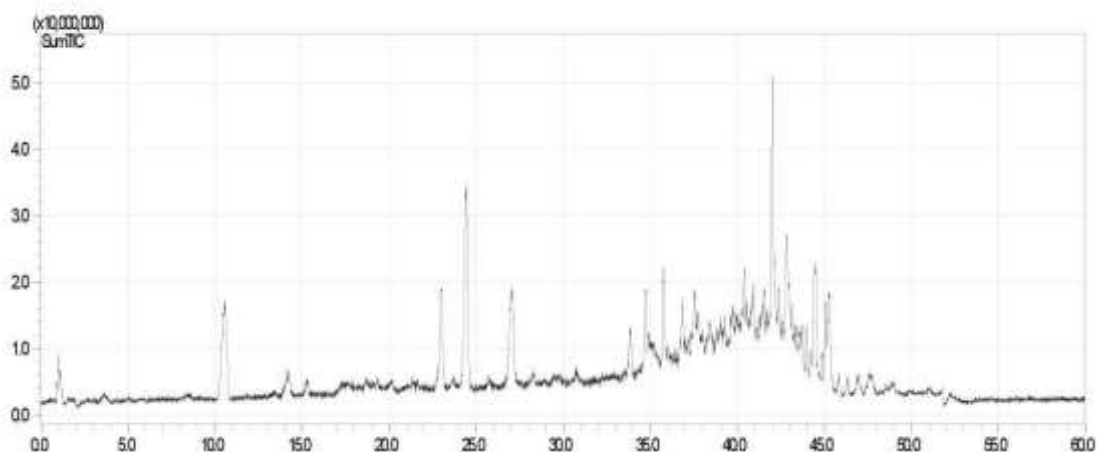
The phytochemical profiles of  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc and BuOH extracts derived from crude extract of *Bellevalia mauritanica* Pomel were determined by an optimized LC-IT-TOF-MS method (75 min) (Figures 1-3). The analyte peaks having intensities higher than 2,500,000 were evaluated. A total of 91 secondary metabolites belonging to diverse classes were identified in each extract (Figures S6-S96 in the Supplementary file). Formulas, retention times, form of ionization (positive or negative), measured and predicted  $m/z$  (with errors) and double bond efficiency (DBE) of supposed phytochemicals are tabulated in Table 2.



**Figure 1.** LC- MS IT- TOF chromatograms of *B. mauritanica* Pomel CHCl<sub>3</sub> extract



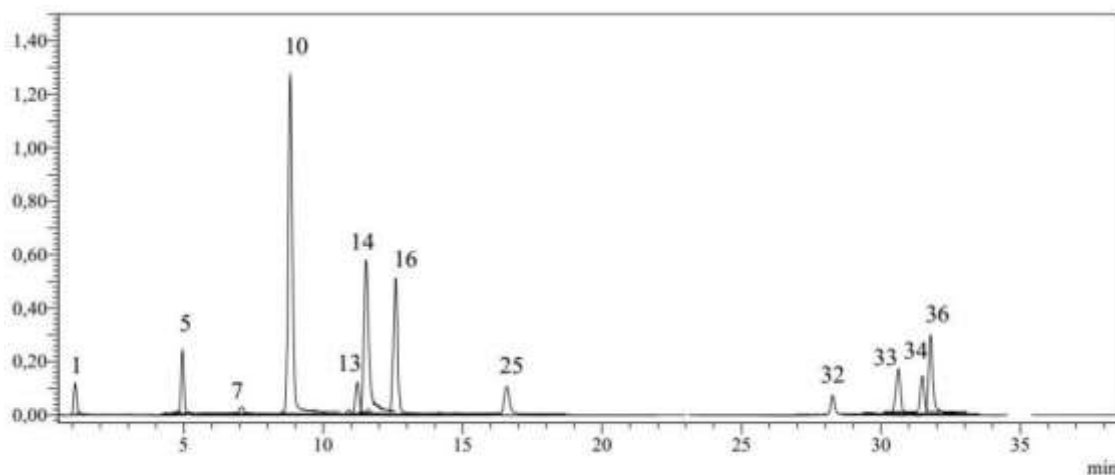
**Figure 2.** LC- MS IT- TOF chromatograms of *B. mauritanica* Pomel BuOH extract



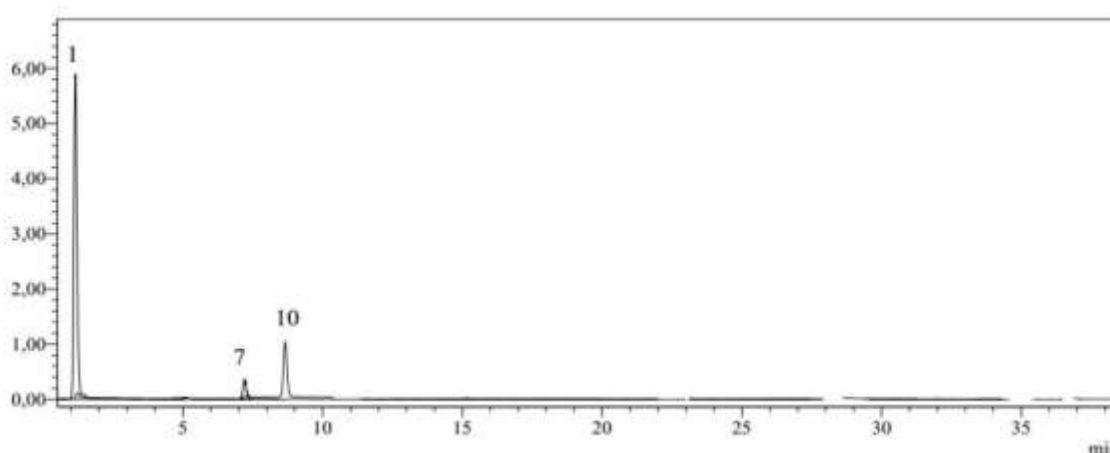
**Figure 3.** LC- MS IT- TOF chromatograms of *B. mauritanica* Pomel EtOAc extract

**LC-MS/MS results**

The phytochemical quantification of the studied extracts was performed by a previously developed and validated LC-MS/MS method using 37 standards of flavonoids, phenolic acids, and aldehydes (Figures 4-6) [18]. The extracts were richer in phenolic acids compared to flavonoid content. EtOAc extract had caffeic acid (1240.7 µg/g extract) and CHCl<sub>3</sub> extract had vanillin (2048.5 µg/g extract), as major compounds. Vanillin is used in cosmetics, foods, beverages and drugs. It exhibits many activities such as antimutagenic, antiangiogenetic, anti-colitis, anti-sickling and antianalgesic effects [31]. Extracts also contained significant amounts of certain phytochemicals such as protocatechuic acid (274.3 and 145.2 µg/g extract, respectively), *p*-coumaric acid (382.8 and 310.9 µg/g extract, respectively), ferulic acid (361.2 and 969.4 µg/g extract, respectively), kaempferol (146.7 and 150.6 µg/g extract, respectively) and syringic acid (138.2 µg/g extract) in CHCl<sub>3</sub>. However, they contained low amounts of salicylic acid (19.2 and 15.5 µg/g extract, respectively), apigetrin (12.1 and 5.3 µg/g extract respectively) and luteolin (9.5 and 42.4 µg/g extract, respectively). BuOH extract had low content in these phytochemicals (Table 1).

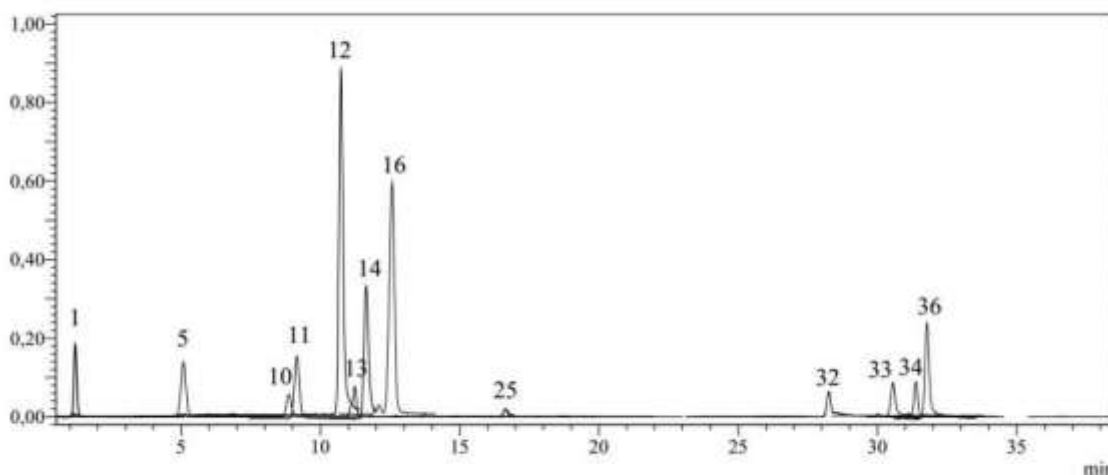


**Figure 4.** LC-MS/MS chromatogram of *B. mauritanica* Pomel EtOAc extract



**Figure 5.** LC-MS/MS chromatogram of *B. mauritanica* Pomel BuOH extract





**Figure 6.** LC-MS/MS chromatogram of *B. mauritanica* Pomel  $\text{CHCl}_3$  extract

### Antioxidant activity

Antioxidant activity was performed using four methods: DPPH<sup>•</sup> free radical scavenging to evaluate the electron transfer to the media, ABTS<sup>•+</sup> which has the same principle as DPPH<sup>•</sup>, whereby the radical is a cation, CUPRAC to evaluate the reduction of a chromogenic oxidizing [22], as  $\text{O}_2^-$  is produced by mitochondria, by the NADPH oxidase or the xanthine oxidase [6], or by mitochondrial electrons of the transport system. For this reason, DMSO alkaline was chosen. BHA and BHT were used as standard compounds in DPPH, ABTS<sup>•+</sup> and CUPRAC methods, while  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid were used in superoxide DMSO alkaline method. The results of all the tests, expressed in term of  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), are presented in Table 3.

Among the extracts, the EtOAc derived from BRCE (Bulbs-Roots Crude Extract) was by far the most active in all the studied antioxidant activity methods. The  $\text{IC}_{50}$  values of the EtOAc extract and standards were obtained in DPPH<sup>•</sup> ( $\text{IC}_{50}$ :  $18.92 \pm 0.56$ ,  $\text{IC}_{50}$ :  $6.14 \pm 0.41$ ,  $\text{IC}_{50}$ :  $12.99 \pm 0.41$ , and  $\text{IC}_{50}$ :  $13.02 \pm 5.17$   $\mu\text{g/ml}$  for the extract, BHA, BHT, and  $\alpha$ -tocopherol, respectively), ABTS<sup>•+</sup> ( $\text{IC}_{50}$ :  $5.70 \pm 0.07$ ,  $\text{IC}_{50}$ :  $1.81 \pm 0.10$ , and  $\text{IC}_{50}$ :  $1.29 \pm 0.30$   $\mu\text{g/ml}$  for the extract, BHA and BHT, respectively), CUPRAC ( $\text{IC}_{50}$ :  $20.16 \pm 0.32$ ,  $\text{IC}_{50}$ :  $5.35 \pm 0.71$   $\mu\text{g/ml}$ , and  $\text{IC}_{50}$ :  $9.62 \pm 0.87$  for the extract, BHA and BHT, respectively) and superoxide DMSO alkaline ( $\text{IC}_{50}$ :  $5.59 \pm 0.22$ ,  $\text{IC}_{50}$ :  $1.33 \pm 0.04$ , and  $\text{IC}_{50}$ :  $0.50 \pm 0.004$   $\mu\text{g/ml}$  for the extract,  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid, respectively). The EtOAc extract might have anti-inflammatory properties since there is a good correlation between superoxide scavenging and anti-inflammatory activities according to Saldanha et al. [32]. Moreover, it contained saponins [33] that were highlighted by screening on TLC (thin layer chromatography) by sulfuric acid/EtOH (1:9) [34]. Furthermore, the presence of high amounts of caffeic acid and moderate amounts of kaempferol was identified by LC-MS/MS [35, 36]. This extract exhibited the highest antioxidant potential among all studied extracts in all tests.

**Table 1.** Analytical parameters that belong to the LC-MS/MS method [18]

No	Analytes	RT <sup>a</sup>	Mother ion (m/z) <sup>b</sup>	Fragment ions	Ion mode	Equation	R <sup>2c</sup>	RSD % <sup>d</sup>		Linearity Range (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L) <sup>e</sup>	Recovery (%)		U <sup>f</sup>	EtOAc	BuOH	CHCl <sub>3</sub>
								Interday	Intraday			Interday	Intraday				
1	Quinic acid	1.13	190.95	85.3-93.3	Neg	y=41.06x+10671	0.996	0.00259	0.00274	250-10000	75.8/79.4	1.00288	0.98778	0.0082	19.1	96.3	98.6
2	Malic acid	1.23	133.00	115.2-71.3	Neg	y=316.95x-42041	0.999	0.00477	0.00527	250-10000	55.3/67.5	1.01266	0.99836	0.0113	N.D.	N.D.	N.D.
3	Fumaric acid	1.48	115.00	71.4	Neg	y=64.99x-11592	0.997	0.00536	0.00460	100-5000	28.1/34.5	0.99748	0.99867	0.0124	N.D.	N.D.	N.D.
4	Galic acid	3.00	168.85	125.2-79.2	Neg	y=226.76x+38152	0.998	0.01601	0.01443	250-10000	95.5/106.9	1.00004	1.00054	0.0282	N.D.	N.D.	N.D.
5	Protocatechuic acid	4.93	152.95	108.3	Neg	y=297.75x+30590	0.995	0.01236	0.01296	100-5000	28.2/31.4	0.99404	1.01070	0.0411	274.3	N.D.	145.2
6	Pyrocatechol	6.48	109.00	108.35-91.3	Neg	y=30.61x+14735	0.996	0.01313	0.01339	1000-20000	26.1/278.4	0.99987	0.99936	0.0235	N.D.	N.D.	N.D.
7	Chlorogenic acid	7.13	353.15	191.2	Neg	y=781.36x-18697	0.998	0.00058	0.00076	25-1000	6.2/8.1	1.00806	0.99965	0.0069	1.5	2.5	N.D.
8	4-OH-benzoic acid	7.39	136.95	93.3-65.3	Neg	y=409.03x+112079	0.998	0.01284	0.01538	250-10000	33.2/38.1	0.99662	1.00058	0.0289	N.D.	N.D.	N.D.
9	Vanillic acid	8.57	166.90	152.3-108.3	Neg	y=35.84x-12097	0.999	0.00528	0.00619	1000-20000	122.2/139.7	1.00093	1.04095	0.0508	N.D.	N.D.	N.D.
10	Caffeic acid	8.80	178.95	135.2-134.3	Neg	y=3963.32x+178156	0.998	0.01454	0.01469	25-1000	18.4/22.4	1.00917	0.98826	0.0354	1240.7	14.1	97.0
11	Syringic acid	9.02	196.95	182.2-167.3	Neg	y=42.33x-52547	0.996	0.01049	0.01345	1000-20000	212.5/233.3	0.99922	0.99977	0.0238	N.D.	N.D.	138.2
12	Vanillin	10.87	151.00	136.3-92.2	Neg	y=446.10x+70934	0.998	0.00696	0.00793	250-10000	44.3/53.1	0.99679	0.99611	0.0280	N.D.	N.D.	2048.5
13	Salicylic acid	11.16	136.95	93.3-65.3	Neg	y=5286.26x+309192	0.989	0.01016	0.01242	25-1000	5.0/6.5	1.00989	0.99013	0.0329	19.2	N.D.	15.5
14	p-Coumaric acid	11.53	162.95	119.3-93.3	Neg	y=3199.20x+13002	0.992	0.01820	0.01727	25-1000	7.3/9.1	1.00617	1.01224	0.0516	382.8	N.D.	310.9
15	Rutin	12.61	609.05	300.1-271.1	Neg	y=561.91x-16879	0.997	0.00473	0.00624	25-1000	5.5/6.5	1.00994	0.98017	0.0159	N.D.	N.D.	N.D.
16	Ferulic acid	12.62	192.95	178.3	Neg	y=80.45x-31782	0.997	0.00708	0.00619	250-10000	36.6/42.0	0.99987	1.00289	0.0494	361.2	N.D.	969.4
17	Sinapinic acid	12.66	222.95	208.3-149.2	Neg	y=141.96x-73294	0.992	0.01446	0.01517	250-10000	78.7/86.1	1.00164	0.99962	0.0281	N.D.	N.D.	N.D.
18	Hesperidin	12.67	610.90	303.1-465.1	Poz	y=1340.27x-43769	0.998	0.00945	0.01126	25-1000	5.4/6.3	1.01733	1.01263	0.0262	N.D.	N.D.	N.D.
19	Isoquercitrin	13.42	463.00	300.1-271.1	Neg	y=803.23x+4981	0.999	0.00682	0.00515	25-1000	5.4/6.3	1.00594	1.00722	0.0133	N.D.	N.D.	N.D.
20	Rosmarinic acid	14.54	359.00	161.2-197.2	Neg	y=909.67x-201692	0.994	0.02014	0.01751	100-5000	6.6/8.8	0.99206	1.03431	0.0713	N.D.	N.D.	N.D.
21	Nicotiflorin	14.68	593.05	285.1-255.2	Neg	y=498.38x+79274	0.991	0.00737	0.00875	100-5000	22.4/25.5	1.02558	1.00970	0.0276	N.D.	N.D.	N.D.
22	o-Coumaric acid	15.45	162.95	119.4-93.3	Neg	y=1219.34x-10915	0.999	0.02730	0.02566	25-1000	24.4/31.1	0.98344	0.99061	0.0513	N.D.	N.D.	N.D.
23	Rhoifolin	16.11	577.05	269.2-211.1	Neg	y=237.15x+11887	0.999	0.00747	0.01528	100-5000	23.1/27.9	1.01046	1.01739	0.0941	N.D.	N.D.	N.D.
24	Quercetin	16.41	447.15	301.1-255.1	Neg	y=339.39x+38910	0.999	0.01528	0.02320	100-5000	22.0/25.2	0.99726	1.00620	2.0079	N.D.	N.D.	N.D.
25	Apigenin	16.59	431.00	268.2-239.2	Neg	y=1775.55x+91121	0.993	0.01797	0.01607	25-1000	5.4/6.1	1.01394	1.00419	0.0597	12.1	N.D.	5.3
26	Coumarin	17.40	147.05	91.0-103.2	Poz	y=33.64x-89700	0.994	0.01306	0.01239	1000-20000	208.4/228.4	0.99947	1.00081	0.0237	N.D.	N.D.	N.D.
27	Myricetin	18.72	317.00	179.2-151.3	Neg	y=583.55x+205727	0.999	0.00652	0.00711	250-10000	53.2/57.2	0.99982	1.00042	0.0126	N.D.	N.D.	N.D.
28	Fisetin	19.30	284.95	135.2-121.3	Neg	y=547.46x+274791	0.991	0.00557	0.00820	250-10000	54.4/61.4	0.99877	1.00031	0.0148	N.D.	N.D.	N.D.
29	Cinnamic acid	25.61	147.00	103.15-77.3	Neg	y=9.06x-12403	0.996	0.00648	0.00816	5000-20000	821.8/859.7	1.00051	0.99927	0.0143	N.D.	N.D.	N.D.
30	Liquiritigenin	25.62	254.95	119.3-135.1	Neg	y=2384.96x+59141	0.996	0.01849	0.01738	25-1000	5.5/6.6	1.00333	0.99957	0.0341	N.D.	N.D.	N.D.
31	Quercetin	28.17	300.90	151.2-179.2	Neg	y=1198.48x+480562	0.990	0.01589	0.01360	100-5000	23.3/28.9	0.98470	1.00103	0.0543	N.D.	N.D.	N.D.
32	Luteolin	28.27	284.75	133.2-151.2	Neg	y=3272.65x+150557	0.997	0.00575	0.00696	25-1000	5.4/6.5	1.00772	0.99524	0.0174	9.5	N.D.	42.4
33	Naringenin	30.68	270.95	151.2-119.3	Neg	y=4315.1x+178410	0.995	0.02054	0.02019	25-1000	5.4/6.4	0.99883	1.01002	0.0521	59.8	N.D.	76.3
34	Apigenin	31.43	268.95	117.3-151.2	Neg	y=4548.36x+295252	0.990	0.02304	0.02204	25-1000	5.4/6.3	1.01444	1.01331	0.0650	34.5	N.D.	73.1
35	Hesperetin	31.76	300.95	164.2-136.2	Neg	y=876.67x+48916	0.997	0.03209	0.02605	25-1000	5.6/6.9	0.98850	0.99435	0.0562	N.D.	N.D.	N.D.
36	Kaempferol	31.88	284.75	255.1-117.3	Neg	y=26.29x+87558	0.992	0.01436	0.01070	1000-20000	206.6/214.3	0.99971	0.99851	0.0209	146.7	N.D.	150.6
37	Chrysin	36.65	252.95	143.3-119.4	Neg	y=2032.13x+95593	0.993	0.00490	0.00630	25-1000	5.4/6.2	1.00338	1.00437	2.0083	N.D.	N.D.	N.D.

<sup>a</sup>RT: Retention time, <sup>b</sup>Mothers ion(m/z); Molecular ions of the standard compounds (m/z ratio), <sup>c</sup>R<sup>2</sup>: Coefficient of determination, <sup>d</sup>RSD: Relative standard deviation, <sup>e</sup>LOD/LOQ (µg/L): Limit of detection/quantification, <sup>f</sup>U (%): percent relative uncertainty at 95% confidence level (k = 2)

**Table 2.** Screening of chemical constituents in *Bellevalia mauritanica* Pomel extracts by HPLC-IT-TOF-MS

N	Elemental composition	Retention time	Measured m/z	Predicted m/z	Error (ppm)	DBE	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH
1	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	0.99	365.1055 [M+Na] <sup>+</sup>	365.1054 [M+Na] <sup>+</sup>	0.27	2.0	*		
2	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	0.99	365.1084 [M+H] <sup>+</sup>	365.1078 [M+H] <sup>+</sup>	1.64	5.0			*
3	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	10.55	423.0902 [M+Na] <sup>+</sup>	423.0898 [M+Na] <sup>+</sup>	0.95	8.0		*	
4	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	10.61	421.0773 [M-H] <sup>-</sup>	421.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-0.3	11.0	*		
5	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	14.17	399.1425 [M+H] <sup>+</sup>	399.1438 [M+H] <sup>+</sup>	-3.26	12.0		*	
6	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub>	14.30	399.1409 [M+Na] <sup>+</sup>	399.1414 [M+Na] <sup>+</sup>	-1.25	9.0	*		
7	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	15.37	399.1427 [M+H] <sup>+</sup>	399.1438 [M+H] <sup>+</sup>	-2.76	12.0	*		
8	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	18.78	429.1528 [M+Na] <sup>+</sup>	429.1520 [M+Na] <sup>+</sup>	1.86	9.0	*		
9	C <sub>27</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	22.59	431.0575 [M+H] <sup>+</sup>	431.0561 [M+H] <sup>+</sup>	3.25	22.0	*		
10	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	22.85	314.1400 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	314.1387 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	4.14	11.0	*		
11	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	22.97	385.0869 [M+Na] <sup>+</sup>	385.0894 [M+Na] <sup>+</sup>	-6.49	10.0		*	
12	C <sub>29</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	23.01	475.0843 [M-H] <sup>-</sup>	475.0823 [M-H] <sup>-</sup>	4.21	22.0		*	
13	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	23.01	363.1066 [M+H] <sup>+</sup>	363.1074 [M+H] <sup>+</sup>	-2.20	10.0		*	
14	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	23.07	385.0911 [M+H] <sup>+</sup>	385.0918 [M+H] <sup>+</sup>	-1.82	13.0	*		
15	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	23.08	475.0853 [M-H] <sup>-</sup>	475.0882 [M-H] <sup>-</sup>	-6.10	13.0	*		
16	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	23.10	363.1083 [M+H] <sup>+</sup>	363.1074 [M+H] <sup>+</sup>	2.48	10.0	*		
17	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	23.80	344.1502 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	344.1492 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.91	11.0	*		
18	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	24.41	377.0890 [M-H] <sup>-</sup>	377.0878 [M-H] <sup>-</sup>	3.18	10.0		*	
19	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	24.41	445.0747 [M-H] <sup>-</sup>	445.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-6.52	13.0		*	
20	C <sub>26</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	24.41	355.0759 [M+H] <sup>+</sup>	355.0754 [M+H] <sup>+</sup>	1.41	22.0		*	
21	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	24.43	333.0963 [M+H] <sup>+</sup>	333.0969 [M+H] <sup>+</sup>	-1.80	10.0		*	
22	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	24.52	445.0745 [M-H] <sup>-</sup>	445.0776 [M-H] <sup>-</sup>	-6.97	13.0	*		
23	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	24.52	333.0962 [M+H] <sup>+</sup>	333.0969 [M+H] <sup>+</sup>	-2.10	10.0	*	*	
24	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	27.02	348.1162 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	348.1137 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	7.18	2.0	*	*	
25	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.06	369.0930 [M+Na] <sup>+</sup>	369.0945 [M+Na] <sup>+</sup>	-4.06	10.0		*	
26	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.09	369.0946 [M+Na] <sup>+</sup>	369.0945 [M+Na] <sup>+</sup>	0.27	10.0	*		
27	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	27.13	347.1129 [M+H] <sup>+</sup>	347.1125 [M+H] <sup>+</sup>	1.15	10.0	*	*	
28	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub>	29.15	429.0434 [M-H] <sup>-</sup>	429.0463 [M-H] <sup>-</sup>	-6.76	14.0	*		
29	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	33.85	361.1283 [M+H] <sup>+</sup>	361.1282 [M+H] <sup>+</sup>	0.28	10.0	*	*	
30	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	34.77	351.2139 [M+Na] <sup>+</sup>	351.2142 [M+Na] <sup>+</sup>	-0.85	3.0	*	*	
31	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	35.73	353.2296 [M+Na] <sup>+</sup>	353.2298 [M+Na] <sup>+</sup>	-0.57	2.0		*	
32	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	35.81	213.1486 [M+H] <sup>+</sup>	213.1485 [M+H] <sup>+</sup>	0.47	3.0	*		
33	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	35.82	348.2747 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	348.2744 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	0.86	2.0	*		
34	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	35.83	353.2312 [M+H] <sup>+</sup>	353.2323 [M+H] <sup>+</sup>	-3.11	5.0	*		
35	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	36.46	299.0909 [M+H] <sup>+</sup>	299.0914 [M+H] <sup>+</sup>	-1.67	11.0	*		
36	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	37.41	274.2738 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	274.2741 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-1.09	1.0	*	*	*
37	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	37.55	318.3002 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.3003 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.31	1.0			*
38	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O	37.55	319.3029 [M+H] <sup>+</sup>	319.2995 [M+H] <sup>+</sup>	10.65	4.0			*
39	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	37.56	227.1636 [M+H] <sup>+</sup>	227.1642 [M+H] <sup>+</sup>	-2.64	3.0		*	
40	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	40.02	296.2595 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	296.2584 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.71	4.0	*	*	
41	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	40.39	277.2152 [M+H] <sup>+</sup>	277.2162 [M+H] <sup>+</sup>	-3.61	5.0		*	
42	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	40.42	384.9350 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-7.79	3.0	*		
43	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	40.42	279.2309 [M+Na] <sup>+</sup>	279.2295 [M+Na] <sup>+</sup>	5.01	1.0	*		
44	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	40.45	295.2269 [M-H] <sup>-</sup>	295.2268 [M-H] <sup>-</sup>	0.34	4.0	*	*	
45	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	40.70	318.3008 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.3003 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.57	1.0		*	
46	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	40.83	298.2738 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	298.2741 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-1.01	3.0			*
47	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	40.84	320.2581 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	320.2584 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.94	6.0			*

DBE: Double Band Efficiency; \*: presence.

**Table 2.** Screening of chemical constituents in *Bellevalia mauritanica* Pomel extracts by HPLC-IT-TOF-MS (Continued)

N	Elemental composition	Retention time	Measured m/z	Predicted m/z	Error (ppm)	DBE	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH
48	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	41.03	293.2143 [M+H] <sup>+</sup>	293.2111 [M+H] <sup>+</sup>	10.91	5.0	*		
49	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	41.15	369.2469 [M-H] <sup>-</sup>	369.2435 [M-H] <sup>-</sup>	9.21	8.0			*
50	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	41.20	284.3315 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.3312 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.06	1.0	*		
51	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	41.49	293.2478 [M+H] <sup>+</sup>	293.2475 [M+H] <sup>+</sup>	1.02	4.0		*	
52	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	41.54	309.2417 [M+H] <sup>+</sup>	309.2424 [M+H] <sup>+</sup>	-2.26	4.0	*	*	
53	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub>	41.55	310.2481 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	310.2529 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-15.47	9.0		*	
54	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	41.98	307.2644 [M+H] <sup>+</sup>	307.2632 [M+H] <sup>+</sup>	3.91	4.0	*		
55	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	42.03	323.2579 [M+H] <sup>+</sup>	323.2581 [M+H] <sup>+</sup>	-0.62	4.0		*	
56	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub>	42.05	442.3352 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	442.3374 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-4.97	0.0			*
57	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O	42.08	177.1268 [M+H] <sup>+</sup>	177.1274 [M+H] <sup>+</sup>	-3.39	5.0			*
58	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.37	384.9343 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	5.72	12.0		*	
59	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	42.43	372.3117 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	372.3108 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.42	3.0	*	*	
60	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.43	384.9342 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	5.46	12.0	*		
61	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	42.44	377.2665 [M+Na] <sup>+</sup>	377.2662 [M+Na] <sup>+</sup>	0.80	3.0	*		
62	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O	42.65	278.2434 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	278.2478 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-15.81	5.0			*
63	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	42.73	505.3315 [M-H] <sup>-</sup>	505.3323 [M-H] <sup>-</sup>	-1.58	11.0			*
64	C <sub>43</sub> H <sub>42</sub> O	42.74	619.3224 [M+HCOO] <sup>-</sup>	619.3218 [M+HCOO] <sup>-</sup>	0.97	23.0			*
65	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>14</sub>	42.84	633.3364 [M+HCOO] <sup>-</sup>	633.3339 [M+HCOO] <sup>-</sup>	3.95	1.0			*
66	C <sub>34</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	42.87	519.3461 [M-H] <sup>-</sup>	519.3480 [M-H] <sup>-</sup>	-3.66	11.0			*
67	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	42.93	384.9349 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	7.27	12.0		*	
68	C <sub>39</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub>	43.05	629.3454 [M-H] <sup>-</sup>	629.3484 [M-H] <sup>-</sup>	-4.77	15.0			*
69	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	43.07	293.2484 [M-H] <sup>-</sup>	293.2475 [M-H] <sup>-</sup>	3.07	4.0		*	
70	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	43.20	515.3519 [M-H] <sup>-</sup>	515.3531 [M-H] <sup>-</sup>	-2.33	12.0	*		
71	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	43.21	459.2901 [M-H] <sup>-</sup>	459.2905 [M-H] <sup>-</sup>	-0.87	12.0	*		
72	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	43.44	384.9355 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-6.49	3.0	*		*
73	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	43.54	531.3480 [M-H] <sup>-</sup>	531.3480 [M-H] <sup>-</sup>	0.00	12.0			*
74	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	43.59	284.2964 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.2948 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	5.63	2.0		*	
75	C <sub>33</sub> H <sub>54</sub> O <sub>8</sub>	43.62	577.3724 [M-H] <sup>-</sup>	577.3746 [M-H] <sup>-</sup>	-3.81	7.0		*	
76	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	43.65	284.2961 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	284.2948 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	4.57	2.0	*		
77	C <sub>16</sub> H <sub>38</sub> O <sub>9</sub>	43.79	392.2865 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	392.2854 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.80	-2.0	*		
78	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O	44.02	336.3251 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	336.3261 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.87	4.0	*		*
79	C <sub>45</sub> H <sub>44</sub> O	44.05	645.3393 [M+HCOO] <sup>-</sup>	645.3374 [M+HCOO] <sup>-</sup>	2.94	24.0	*		
80	C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>8</sub>	44.30	605.4027 [M-H] <sup>-</sup>	605.4059 [M-H] <sup>-</sup>	-5.29	7.0	*		
81	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O	44.43	360.3228 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	360.3261 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-9.16	6.0		*	
82	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	44.43	384.9347 [M-H] <sup>-</sup>	384.9321 [M-H] <sup>-</sup>	6.75	12.0		*	
83	C <sub>21</sub> H <sub>48</sub> O	44.49	339.3452 [M+Na] <sup>+</sup>	339.3597 [M+Na] <sup>+</sup>	-42.73	-2.0		*	
84	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	44.53	347.2581 [M-H] <sup>-</sup>	347.2592 [M-H] <sup>-</sup>	-3.17	5.0		*	
85	C <sub>22</sub> H <sub>40</sub> O	44.57	338.3428 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	338.3417 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.25	3.0	*		*
86	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>20</sub>	44.86	384.9367 [M-H] <sup>-</sup>	384.9380 [M-H] <sup>-</sup>	-3.38	3.0	*	*	
87	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O	45.11	340.3573 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	340.3574 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.29	2.0	*	*	*
88	C <sub>24</sub> H <sub>44</sub> O	45.18	366.3744 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	366.3730 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.82	3.0	*	*	*
89	C <sub>33</sub> H <sub>54</sub> O <sub>5</sub>	45.33	531.4077 [M+H] <sup>+</sup>	531.4044 [M+H] <sup>+</sup>	6.21	7.0	*		*
90	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O	45.93	368.3917 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.3887 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	8.14	2.0			*
91	C <sub>16</sub> H <sub>2</sub> O <sub>12</sub>	45.36	384.9456 [M-H] <sup>-</sup>	384.9473 [M-H] <sup>-</sup>	-4.42	16.0			*

The weakest antioxidant potential was observed for the BRCE and APCE extracts in all the tested methods (Table 3). However, one study reported the high antioxidant potency of aerial parts extracts of *Bellevalia gracilis* Feinbrun, in total antioxidant status (TAS) ranging from 4,169 to 1,301 mmol Trolox Equiv./L [37].

### Anticholinesterase activity

Regarding the enzymatic inhibitory effect, the anticholinesterase activities were evaluated for all extracts using two enzymes: AChE and BChE (Table 3) which decrease neurotransmitter Ach involved in Alzheimer disease [38]. The only active extract able of inhibiting AChE, was EtOAc (IC<sub>50</sub>: 7.09 ± 0.04 µg/ml) which was close to galantamine (IC<sub>50</sub>: 6.27 ± 1.15 µg/ml) that was used as standard. Antiacetylcholinesterase activity might be due to the presence of triterpenoids in the EtOAc fraction [39], confirmed by phytochemical screening on TLC using Anisaldehyde. Furthermore, the EtOAc extract contained phenolic acids (high amounts of caffeic acid and moderate amounts of ferulic acid, p-coumaric acid and protocatechuic acid) that have acetylcholinesterase inhibitory activity solely or together [40]. There might be a synergy between these compounds. As for BChE, none of the extracts had an inhibitory effect on this enzyme.

**Table 3.** Antioxidant activity by DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, Superoxyde DMSO alkaline, and CUPRAC assays<sup>a</sup>, anticholinesterase activity<sup>a</sup> and total phenolic and flavonoids of the different extracts of *B. mauritanica* Pomel

Extracts	[IC <sub>50</sub> ] (µg/ml)		Total phenolic compounds content <sup>[a]</sup> (µg GAE/mg)	Flavonoids content <sup>[a]</sup> (µg QE/mg)	DPPH <sup>a</sup>	[IC <sub>50</sub> ] (µg/ml)		[A <sub>0.5</sub> ]
	BChE assay <sup>[a]</sup>	AChE assay <sup>[a]</sup>				ABTS <sup>•+</sup> <sup>[a]</sup>	superoxyde DMSO alkaline <sup>[a]</sup>	
APCE	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	24.59 ± 0.55	8.15 ± 0.25	150.17 ± 10.25	95.64 ± 1.92	110.74 ± 7.36	105.08 ± 1.12
BRCE	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	2.68 ± 0.30	3.01 ± 0.80	281.33 ± 2.35	101.09 ± 3.22	47.08 ± 1.76	231.24 ± 4.35
CHCl <sub>3</sub>	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	118.27 ± 1.30	44.75 ± 0.98	52.53 ± 3.39	40.20 ± 1.75	20.1 ± 1.25	50.24 ± 0.14
BuOH	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	91.65 ± 0.82	17.05 ± 0.92	29.28 ± 2.53	20.85 ± 1.07	10.0 ± 0.08	45.17 ± 0.04
EtOAc	NA <sup>[c]</sup>	7.09 ± 0.04	65.67 ± 1.10	10.78 ± 0.55	18.92 ± 0.56	5.70 ± 0.07	5.59 ± 0.22	20.16 ± 0.32
Galantamine <sup>[b]</sup>	6,27 ± 1,15	34.75 ± 1.99	-	-	-	-	-	-
BHA <sup>[b]</sup>	-	-	-	-	6.14 ± 0.41	1.81 ± 0.10	NT	5.35 ± 0.71
BHT <sup>[b]</sup>	-	-	-	-	12.99 ± 0.41	1.29 ± 0.30	NT	9.62 ± 0.87
α-tocopherol <sup>[b]</sup>	-	-	-	-	13.02 ± 5.17	NT	1.33 ± 0.04	NT
ascorbic acid <sup>[b]</sup>	-	-	-	-	NT	NT	0.5 ± 0.004	NT

BHA: Butylatdehydroxyanisole, BHT: Butylatedhydroxytoluene. NT: not tested. <sup>[a]</sup>Values expressed are means±S.D. of three parallel measurements (n=3). <sup>[b]</sup>Reference compounds. <sup>[c]</sup>NA: Not active.

### Antibacterial activity

Furthermore, antibacterial activity was evaluated using the disc diffusion method. Among the tested extracts, the most active one was the EtOAc followed by CHCl<sub>3</sub> (Table 4). Against *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, EtOAc extract had medium activity (11 ± 0.58 mm), and (8.5 ± 0.58) mm at 100 mg/ml and 50 mg/ml respectively), and such was the case for CHCl<sub>3</sub> extract (9.5 ± 0.58 mm) at 100 mg/ml). Against *Bacillus subtilis* ATCC 6633, EtOAc extract had a mild activity (11 ± 0.58 mm) at 100

mg/ml and a weak activity ( $8 \pm 0.58$  mm) at 6.25 mg/ml and 50 mg/ml, and ( $7 \pm 0.58$  mm) at 12.5 mg/ml and 25 mg/ml) followed by the  $\text{CHCl}_3$  extract which had medium activity at 100 mg/ml ( $9.5 \pm 0.58$ ) and ( $8.5 \pm 0.58$ ,  $6.5 \pm 0.58$ ,  $9 \pm 0.58$  mm) at 50, 25, and 12.5 mg/ml respectively. BRCE showed a weak activity ( $7.5 \pm 0.58$  mm) at 50 mg. Only the two Gram+ve strains were sensitive to the active extracts: *S. aureus* ATCC 43300 and *B. subtilis* ATCC 6633 (Table 4). This activity might be due to Kaempferol [35]. However, the BuOH (1-butanol of bulb-roots crude extract) and aerial part extract showed no sensitivity against all tested pathogens. This antimicrobial action of plant secondary metabolites is due to their diffusion through cellular membranes and their interaction with intracellular constituents [41].

No studies on extracts of the species *Bellevalia* have so far been performed. Therefore, our results were compared with those of other works carried out on the genus *Muscari* which is the closest to *Bellevalia* Lapeyr. We found that APCE had similar effects to cyclohexane, dichloromethane, methanolic and aqueous extracts of *Muscari caucasicum* Baker against which the two common strains *S. aureus* and *Escherichia coli* were not sensitive [42]. Besides, APCE had a similar effect to the ethanolic extract of *Muscari neglectum*. The latter had no antibacterial effect against *S. aureus*, while it exerted a good antibacterial effect on *Escherichia coli* [43].

$\text{CHCl}_3$  extract had a similar composition to EtOAc but it was less active, in terms of antioxidant and antibacterial effects. However, it had no inhibitory effect on acetylcholinesterase, despite the presence of enzymatic inhibitors of phenolic acids (Table 3). This could be explained by the fact that the  $\text{CHCl}_3$  extract contains more metabolites such as primary ones and may interfere antagonistically with secondary metabolites [44]. Furthermore, secondary metabolites may undergo antagonistic effects.

### Supplementary material

HPLC-MS-IT-TOF Figures (S1 to S96) are available in the Supplementary file.

**Table 4.** Zones of inhibition of *Bellevia mauritanica* Pomel active extracts<sup>a</sup> and antibiotics<sup>b</sup> tested against pathogen bacterial strains (mm)

	Gram +ve						
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830	<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 29905
EtOAc <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	11 ± 0.58	11 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	8 ± 0.58	8 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
25	0.00 ± 0.00	7 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12,5	0.00 ± 0.00	7 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
6,25	0.00 ± 0.00	8 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
CHCl <sub>3</sub> <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	9.5 ± 0.58	9.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	0.00 ± 0.00	8.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
25	0.00 ± 0.00	6.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12,5	0.00 ± 0.00	9 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
BRCE <sup>[a]</sup> mg/ml							
100	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
50	0.00 ± 0.00	7.5 ± 0.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Oxal <sup>[b]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT	NT	NT
E <sup>[b]</sup>	22	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT
C <sup>[b]</sup>	28	NT	23	NT	NT	NT	25
Pi <sup>[b]</sup>	NT	NT	NT	NA	18	NT	NA <sup>[c]</sup>
PRL <sup>[b]</sup>	NT	NT	NT	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>	NA <sup>[c]</sup>
AK <sup>[b]</sup>	NT	NT	23	27	28	24	NT
CD <sup>[b]</sup>	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT	NT
CIP <sup>[b]</sup>	NT	27	NT	NT	NT	30	NT
AMC <sup>[b]</sup>	NT	NT	NA <sup>[c]</sup>	NT	NT	NT	NT

Ox: oxacillin (1µg/disc); Pi: pipemidic acid (20µg/disc); E: erythromycin (15µg/disc) ; PRL: piperacilline (100µg/disc); AMC: augmentin (30µg/disc); C: chloramphenicol (30µg/disc); CD: clindamycin (2µg/disc); AK: Amikacine (30µg/disc); CIP: ciprofloxacin (5µg/disc). NA: Not active. Nt: Not tested. N.B. negative control: DMSO (dimethyl sulfoxide) was no active. <sup>[a]</sup>Values expressed are means±S.D. of three parallel measurements (n=3). <sup>[b]</sup>Reference compounds. <sup>[c]</sup>NA: Not active.

## Conclusion

The present study deals for the first time with phytochemical screening, antioxidant, antibacterial and anticholinesterase activities of *Bellevalia mauritanica* Pomel. According to the high-resolution LC-MS-IT-TOF analysis results, 91 phytochemicals were qualitatively determined in each fraction of the studied species. Moreover, quantitative screening of phenolic acids and flavonoids, accomplished by using a previously developed and validated LC-MC/MS method, revealed the presence of different classes of flavonoids and phenolic compounds, in addition to the presence of triterpenes and saponins highlighted by prescreening on plates.

The ethyl acetate fraction of bulbs-roots showed good antioxidant and antiacetylcholinesterase activities, with a medium antibacterial potent which can serve as a natural antioxidant and an antiacetylcholinesterase. However, *in vivo* tests must be conducted in order to derive its toxicological and therapeutical properties. An isolation of phytoconstituants of this species must be carried out so as to identify the compound(s) responsible for each activity and to affirm synergetic or antagonist effect of components, present in each extract and EtOAc in particular.

## Acknowledgments

The authors would like to thank GRSDT and MESRS (PNE), Algeria, Drs. Ouided Abdelaziz, Imed Mennai, Miss Benouchen Djamilia, Mrs Maya Medjmedj, and Professor Hocine Ali-khoudja for English revision from Brothers Mentouri University of Constantine 1, Algeria. Authors are also thankful to Dicle University Science and Technology Research and Application Center for opening its facilities.

## References

- [1] Ouelbani, R.; Bensari, S.; Mouas, T. N.; Khelifi, D., Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (Noth-East of Algeria), *J. of Ethnopharmacol.*, **2016**, *194*, 196-218.
- [2] Vargas, S.; Ndjoko Ioset, K.; Hay, A.-E.; Ioset, J.-R.; Wittlin Hostettmann, S. K., Screening medicinal plants for the detection of novel antimalarial products applying the inhibition of  $\beta$ -hematin formation, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, *56*, 880-886.
- [3] Du, Y.; Zheng, Z.G.; Yu, Y.; Wu, Z.T.; Liang, D.; Li, P.; Jiang, Y.; Li, H.J., Rapid discovery of cyclopamine analogs from *Fritillaria* and *Veratrum* plants using LC-Q-TOF-MS and LC-QqQ-MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2017**, *142*, 201-209.
- [4] Torres de Pinedo, A.; Pen alver, P.; Morales, J.C., Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship, *Food Chem.*, **2007**, *103*, 55-61.
- [5] Silva, M.M.; Lidon, F.C., An overview on applications and side effects of antioxidant food additives, *J. Food Agric.*, **2016**, *28(12)*, 823-832.
- [6] Birben, E.; Sahiner, U. M.; Sackesen, C.; Erzurum, S.; Kalayci, O., Oxidative stress and



antioxidant defense, *World Allergy Organ. J.*, **2012**, *5*, 9-19.

[7] Watkins, P. B.; Zimmerman, H. J.; Knapp, M. J.; Gracon, S. I.; Lewis, K. W., Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease, *J. Am. Med. Assoc.*, **2015**, *271(13)*, 992-998.

[8] Radulović, N.S.; Blagojević, P.D.; Stojanović-Radić, Z.Z.; Stojanović, N.M., Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action, *Curr. Med. Chem.*, **2013**, *20*, 932-952.

[9] Astuti, G.; Brullo, S.; Domina, G. R.; El Mokni, T.; Giordani, Peruzzi, L., Phylogenetic relationships among tetraploid species of *Bellevalia* (Asparagaceae) endemic to south-central Mediterranean, *Plant Biosystems.*, **2017**, *151*, 1121-1128.

[10] Chase, M.W.; Reveal, J.L.; Fay, M.F., A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae, *Bot. J. Linn. Soc.*, **2009**, *161*, 132-136.

[11] Li-Gen, L.; Qian-Yu, L.; Yang, Y., Naturally occurring homoisoflavonoids and their pharmacological activities, *Planta Med.*, **2014**, *80*, 1053-1066.

[12] Adinolfi, M.; Aquila, T.; Parrilli, G.; Barone Lanzetta, R., Homoisoflavanones from *Bellevalia romana*. *Phytochemistry*, **1989**, *28(11)*, 3244-3246.

[13] Alali, F.; El-Elimat, T.; Albataineh, H.; Al-Balas, Q.; Al-Gharaibeh, M.; Falkinham, J. O.; Chen, W.N.; Swanson, S.M.; Oberlies, N.H.; Cytotoxic homoisoflavones from the bulbs of *Bellevalia egii*, *J. Nat. Prod.*, **2015**, *78*, 1708-1715.

[14] El-Elimat, T.; Rivera-Chávez, J.; Burdette, J.E.; Czarnecki, A.; Alhawarri, M.B.; Al-Gharaibeh, M.; Alali, F.; Oberlies, N.H., Cytotoxic homoisoflavonoids from the bulbs of *Bellevalia flexuosa*, *Fitoterapia*, **2018**, *127*, 201-206.

[15] Adinolfi, M.; Barone, G.; Dela Greca, M.; Mangoni, L., Isolation and structure of bellevaliosides, *Gazz. Chim. Ital.*, **1990**, *120*, 427-433.

[16] Çakir, A.E., Traditional knowledge of wild edible plants of Iğdır Province (East Anatolia, Turkey), *Acta Soc. Bot. Pol.*, **2017**, *86(4)*, 2-20.

[17] Güneş, F., Özhatay, N., An ethnobotanical study from Kars (Eastern) Turkey, *Bio. Di. Con.*, **2011**, *4(1)*, 30-41.

[18] Yilmaz, M.A.; Ertas, A.; Yener, I. Akdeniz, M.; Çakir, O.; Altun, M.; Demirtas, I.; Boga, M.; Temel, H, A comprehensive LC–MS/MS method validation for the quantitative investigation of 37 fingerprint phytochemicals in *Achillea* species: A detailed examination of *A. coarctata* and *A. monocephala*, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2018**, *154*, 413-424.

[19] Vernon, R.O.; Singleton, L.; Lamuela-Ravents, R.M., Analysis of Total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent, *Met. Enzym.*, **1999**, *299*, 152-178.

[20] Turkoglu, A.; Emin, M.; Mercan, N., Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill., *Food Chem.*, **2007**, *101*, 267-273.

- [21] Blois, M.S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **1958**, 4617 (181), 1119-1200.
- [22] Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, **1999**, 26, 9-10.
- [23] Rao, M.N.A.; Kunchandy, E., Oxygen radical scavenging activity of curcumin, *Int. J. Pharm.*, **1990**, 26, 1231-1237.
- [24] Apak, R.; Güçlü, K.; Özyürek, M.; Karademir, S.E., Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 26, 7970-7981.
- [25] Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Feathersone, R.M., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.*, **1961**, 7, 88-95.
- [26] Badger, M J.L.; Stins, F.; Kim, K.S., *Citrobacter freundii* invades and replicates in human brain microvascular endothelial cells, *Infect. Immun.*, **1999**, 67, 4208-4215.
- [27] Mobley, H.L.T.; Chippendale, G.R.; Swihart, K.G.; Welch, R.A., Cytotoxicity of the HpmA hemolysin and urease of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* against cultured human renal proximal tubular epithelial cells, *Infect. Immun.*, **1991**, 59, 2036-2042.
- [28] Mcdermott, C.; Mylotte, J.M., *Morganella morganii* epidemiology of bacteremic disease, *Infect. control.*, **2017**, 5, 131-137.
- [29] Biondi, D.; Cianci, P.A.; Geraci, C.; Ruberto, G., Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants, *Flavor fragr. J.*, **1993**, 8, 331-377.
- [30] Yener, İ.; Ertaş, A.; Yılmaz, M. A.; Tokul Ölmez, Ö.; Köseoğlu Yılmaz, P.; Yeşil, Y.; Kaplaner, E.; Öztürk, M.; Temel, H.; Kolak, U.; Topçu, G., Characterization of the chemical profile of *Euphorbia* Species from Turkey by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GCMS), Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), and Liquid Chromatography–Ion Trap–Time-of-Flight–Mass Spectrometry (LC-IT-TOF-MS) and Chemometric Analysis, *Anal. Lett.*, **2019**, 52, 1031-1049.
- [31] Tai, A.; Sawano, T.; Yazama, F.; Ito, H., Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays *Biochim. Biophys. Acta.* **2011**, 1810, 171-177.
- [32] Saldanha, S. L.; Elias, G.; Rao, M.N.A., Oxygen radical scavenging activity of phenylbutenones and their correlation with anti-inflammatory activity, *Arzneim Forsch./Drug Res.*, **1990**, 40 (1), 89-91.
- [33] Sparg, S.G.; Light, M.E.; Staden, J.V., Biological activities and distribution of plant saponins, *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, 94, 219-243.
- [34] Sharma, O.P.; Kumar, N.; Singh, B.; Bhat, T.K., An improved method for thin layer chromatographic analysis of saponins, *Food Chem.*, **2012**, 132(1), 671-674.
- [35] Calderón-Montaño, J.M.; Burgos-Morón, E.; Pérez-Guerrero, C.; López-Lázaro, M., A review on the dietary flavonoid kaempferol, *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2011**, 11, 298-344.

- [36] El Gabbas, Z.; Bezza, K.; Laadraoui, J.; Ait Laaradia M.; Kebbou Oufquir, A. S.; Boukhira, A.; Aboufatima, R.; Chait, A., *Salvia officinalis*, rosmarinic and caffeic acids attenuate neuropathic pain and improve function after sciatic nerve chronic constriction in mice, *Evid. Based complementary alterna. Med.*, **2019**, 1-17.
- [37] Cıkıcıkoglu Yildirim, N.; Paksoy, M.Y.; Yuce, E.; Yildirim, N., Total antioxidant status and antifungal activities of endemic geophytic plants collected from munzur valley in tunceli, Turkey, *Dig. J. Nanomater. Bios.*, **2013**, 8, 403-408.
- [38] Pepeu, G.; Giovannini, M.G., Cholinesterase inhibitors and memory, *Chem-Biol Interact.*, **2010**, 187, 403-408.
- [39] Ahmed, F.; Ghalib, R.M.; Sasikala, P.; Ahmed, K.K.M., Cholinesterase inhibitors from botanicals, *Phcog. review.*, **2013**, 7(4), 121-130.
- [40] Szwajgier, D., Anticholinesterase activity of phenolic acids and their derivatives, *Naturforsch.*, **2013**, 68c, 125-132.
- [41] Sikkema, J.A.N.; Jan, A.M.; Poolman, B., Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1995**, 59, 201-222.
- [42] Lotfipour, F.; Nazemiyeh, H.; Fathi-Azad, F.; Garaei, N. S.; Arami, S.; Talat, F.; Sadegpour, Hasanpour, R., Evaluation of antibacterial activities of some medicinal plants from North-West Iran, *Iran J. Basic Med. Sci.*, **2008**, 11, 80-85.
- [43] Mahboubi, M.; Taghizadeh, M., The antimicrobial and antioxidant activity of *Muscari neglectum* flower ethanol extract, *Herba Pol.*, **2016**, 62 (4), 39-48.
- [44] Gonulalan, E.; Nemitlu, M. E.; Demirezer, L. O., A new perspective on evaluation of medicinal plant biological activities: The correlation between phytomics and, matrix metalloproteinases activities of some medicinal plants, *Saudi Pharm. J.*, **2019**, 27(3), 446-452.

1 ***In vitro* apoptosis induced mitochondrial dysfunction and cytotoxic effect of**  
2 **isocostic acid isolated from Algerian *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter**

3 Souheir Bensari<sup>a1\*</sup>, Rayene Ouelbani<sup>a1\*</sup>, Musatfa Abdullah Yilmaz<sup>b,f</sup>, Nessrine Lariche<sup>c</sup>, Sevgi  
4 Irtegun-Kandemir<sup>d</sup>, Mesbah Lahouel<sup>c</sup>, Mouas Toma Nardjes<sup>a</sup>, Douadi Khelifi<sup>a,e</sup>

5  
6 1: authors contributed equally

7  
8  
9 <sup>a</sup>Laboratory of Genetics Biochemistry and Plant Biotechnology, Faculty of Sciences of Nature and Life,  
10 University Frères Mentouri Constantine 1, Constantine ,Algeria.

11 <sup>b</sup>Dicle University Science and Technology Research and Application Center (DUBTAM) ,DicleUniversity,  
12 Diyarbakir, Turkey.

13 <sup>c</sup>Laboratory of molecular toxicology, faculty of sciences SNV, University of mohammed seddik benyahia,Jijel,  
14 18000, Algeria.

15 <sup>d</sup>Dicle university, Faculty of Medecine. Medical biology, Diyarbakir,Turkey.

16 <sup>e</sup>National High School of Biotechnology, Constantine,Algeria.

17 <sup>f</sup>Dicle University, Faculty of Pharmacy, 21280, Diyarbakir, Turkey.

18  
19  
20  
21  
22 **\*Corresponding Author:** Rayene Ouelbani, Email: rayene.ouelbani@gmail, Souheir Bensari,  
23 Email: souheir.ben@gmail.com. Laboratory of Genetics Biochemistry and Plant  
24 Biotechnology, Faculty of Sciences of Nature and Life, University Frères Mentouri  
25 Constantine1, Constantine, Algeria.  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36

37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate the effect of isocostic acid (1), a sesquiterpene isolated from Algerian *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, by determining the ability of this compound of inducing the superoxide anion production, mitochondrial swelling, and the investigation of the cytotoxic activity against three cancer cell-lines: Human brain cancer (U118), colon cancer (Caco-2), ovarian cancer (SKOV-3), and healthy cell line Primary Human dermo Fibroblast (HDF). From DPPH scavenging assay, results showed that the isocostic acid provided a pro-oxidant effect, which was confirmed by the ability of this compound to increase superoxide anion generation, at different concentrations ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ , and  $10^{-5}$   $\mu$ M respectively), leading to cell apoptosis. Furthermore, the effect of isocostic acid on the increasement of mitochondrial permeability was demonstrated by mitochondrial swelling. However, antiproliferative activity showed that compound (1), was able to inhibit the cell proliferation at all concentrations (25 $\mu$ g, 50 $\mu$ g, 100 $\mu$ g, and 200 $\mu$ g) causing a dose-dependent cytotoxicity, with different potency. Nevertheless, the most sensitive cell line was U118, in which cell viability decreased clearly between 100 $\mu$ g (41.7321 $\pm$ 2.0903%) and 200 $\mu$ g (3.8973 $\pm$ 0.63123%) with IC<sub>50</sub>:72.32  $\mu$ g/ml. These results revealed and confirmed the importance of this species, especially by the ability of compound (1) to have an apoptotic character and to act as cytotoxic agent, which can represent a potent anticancer sesquiterpene from Algerian *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter.

**Keywords:** *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter.; isocostic acid ; cytotoxic activity; mitochondria.

## 66 1. Introduction

67 Cancer diseases, designates an uncontrolled proliferation of abnormal cells, which will  
68 invade and infect healthy tissue but in some cases, cancer cells can be detached from their  
69 original locations causing metastasis. Thus, because of the impact of these diseases on  
70 human health, treatment with anti-cancer agents is very necessary to control of tumor-cells  
71 proliferation. It's already known that numerous groups of molecules used as anticancer  
72 agents are derived from medicinal plants extracts such as: flavonoids, alkaloids and  
73 terpenoids which gave promising results, this strategy offer a big research area for natural  
74 product with a good anticancer potential.

75 *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, belonging to *Dittrichia* Greuter genus, members of this  
76 genus are pharmacologically important (Seca et al.; 2014), they have a wide distribution in  
77 Mediterranean regions, traditional medicine attributed many therapeutic properties to several  
78 species of this genus, in Algerian folk medicine, this species is called 'Megremen', it is used  
79 for the treatment of cough, fever, hemorrhoids, rheumatism, immune system, osteoarthritis,  
80 and it's also used as antifungal and anti-inflammatory agent (Ouelbani et al.; 2016). Previous  
81 works showed that different extracts of this species, had significant anticancer activity, such  
82 as methanolic extract against MCF-7, SIH, HeLa and T98-G cell lines, also the ethanolic and  
83 ethyl acetate extracts of Moroccan *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter inhibiting cell growth in  
84 breast cancer cell lines (Messaoudi et al.; 2016; Ozkan et al.; 2019), in addition to one study  
85 reporting, the pronounced antibacterial and enzymatic activities of isocostic acid, isolated  
86 from Tunisian *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter (Aissa et al.; 2019).

87 However, sesquiterpenes are known for their apoptosis induction by mitochondrial dysregulation  
88 and production of ROS, in different *in vitro* tests carried out on breast cancer and colon cancer  
89 cell lines (Lahouel et al.; 2007; Lariche et al.; 2017; Ilyich et al.; 2018), for this reason, several  
90 studies have been focused on sesquiterpenes of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, and they have  
91 been investigated such as, tomentosin and inuviscolide against human melanoma cell line  
92 (Messaoudi et al.; 2016). One of sesquiterpenoides isoleted from this species is isocostic acid,  
93 which was largely studied, especially in essential oil composition or crude extracts of aerial parts,  
94 it has been shown that essential oil containing isocostic acid as one of the main compounds  
95 among others, exhibited a good cytotoxic activity (Berhail et al.; 2012; Messaoudi et al., 2016).

96 According to the literature and in order to find natural anticancer agents, this study aims to  
97 evaluate the effect of isocostic acid, isolated from Algerian *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter on  
98 mitochondria, by investigating their ability of inducing the superoxide anion production and  
99 mitochondrial swelling in addition to its cytotoxic activity against three cancer cell-lines: U118,  
100 Caco-2 and SKOV-3 and one healthy cell line: HDF.

## 101 **2. Materials and methods**

### 102 *2.1. Plant material*

103 Aerial parts of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter were collected in October 2015 from the region  
104 Boussouf (latitude N36°20.368' and longitude E 006°34.931') at 498 m of Constantine city  
105 (Algeria) then air-dried at room temperature. Samples were identified by professor Gérard de  
106 Bélaire, botanist at University of Badji Mokhtar Annaba, Faculty of Nature and Life Sciences  
107 and a voucher specimen was deposited in herbarium Gérard de Belair (001\_23)  
108 [www.gdebelair.com](http://www.gdebelair.com).

### 109 *2.2. Extraction, isolation and structure elucidation*

110 Air-dried aerial parts were finely powdered using liquid nitrogen, 750 g were macerated in  
111 acetone (7.5 ×3) to obtain a dry crude extract (42.52 g), then an acid extraction was achieved  
112 on this extract as follow: the dry crude extract was dissolved in dichloromethane (3L×6) then  
113 subjected to liquid-liquid extraction with NaOH (1N) solution (4L× 6), where the pH was  
114 adjusted by addition of HCl (pH= 2), the last acid solution derived from this extraction was  
115 submitted to another liquid-liquid extraction with dichloromethane (6L×6), which led to  
116 obtain an organic acid phase (12.19 g). However, the organic acid phase was subjected to a  
117 cold extraction with hexane in order to precipitate chlorophyll, and the dry residue was  
118 fractionated by column chromatography on silica gel with a gradient of petroleum ether/ethyl  
119 acetate (40:30) and 2 fractions were obtained (F1, F2). After that, each fraction was purified  
120 using a combination of column chromatography and TLC. According to chromatographic  
121 profile, F2 represented isocostic acid with some impurities (1.159g), this fraction was further  
122 purified using column chromatography on silica gel with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ACOEt (7:1) to give pure  
123 isocostic acid (1) (432 mg). Compound (1) structure was determined, using 600 MHz  
124 apparatus from Agilent technologies (Santa Clara, California USA) at 600 MHz (<sup>1</sup>H) and 150

125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) to record NMR spectra, and by comparison with the literature (Zaki et al.; 2014)  
126 and molecular mass was determined by LC-MS-IT-TOF (HR).

### 127 2.3. Isolation of mitochondria

128 Based on differential centrifugation, mitochondria were isolated from Wistar rats liver (weighing  
129 300g) after being killed and dissected (Rustin et al.; 1994). Thereafter, small parts of finely  
130 cut livers (1g) were placed in buffer of isolation TSE (250 mM sucrose + 50 mM Tris + 5mM  
131 EGTA, pH= 7.2 at 4°C) and then rinsed two times in the same buffer using  
132 a dounce homogenizer potter for lysing cells and liberation of mitochondria. The obtained  
133 homogenate was centrifuged at 1770 rpm for 10 min at 4°C to remove cell debris and the  
134 supernatant was centrifuged a second time at 9600 rpm for 10min at 4°C, after this  
135 centrifugation, the pellet was re-suspended in 1.5 mL of TSE and centrifuged at 9600 rpm for  
136 10 min at 4°C then the pellet was re-suspended in 1.5 mL of TS (250mM sucrose+ 50mM  
137 Tris, pH=7.2 at 20°C) and centrifuged at 9600 rpm for 10min at 4°C. Finally, the  
138 mitochondrial pellet was re-suspended in 200µL of TS.

### 139 2.4. Free radical scavenging activity (DPPH)

140 DPPH assay was performed by using an ethanol solution of DPPH (100 µM) prepared and  
141 stored in dark. The sample was added to the ethanol solution of DPPH and the decrease in  
142 absorbance was measured at 530nm.

### 143 2.5. Superoxide anion ( $\text{O}_2^-$ ) assay

144 The generation of the superoxide anion was evaluated by measuring the reduction of NBT  
145 (nitrobluetetrazolium) by  $\text{O}_2^-$  in monoformazan which absorbs at 560 nm was evaluated  
146 according to the method of Zini et al., (1998). However, in a final volume of 1.2 mL of TR with  
147 rotenone: 1mg/ml of the mitochondrial suspension, 1.2 µL of cyclosporine, 12 µL of NBT  
148 and 12 µL of sample (isocostic acid) were added and after incubation of 1 min, a volume of  
149 7.2 µL of succinate was added, then the absorbance was measured at 560 nm.

### 150 2.6. Mitochondrial swelling

151 mitochondrial swelling was assessed according to the protocol described by Elimadi et al.;  
152 (1997). The swelling was determined by measuring the absorption decrease of the  
153 mitochondrial suspension at 540 nm. However, in a final volume of 1.8 mL of TR with



154 rotenone: 1mg/ml of mitochondrial suspension and 10.8  $\mu$ L of succinate were added, after  
155 incubation of 1 min, a volume of 2.25  $\mu$ L of  $\text{CaCl}_2$  at 100 mM was added and the absorbance  
156 was measured at 540nm for 5 min.

### 157 2.7. Dosage of mitochondrial proteins

158 The dosage of mitochondrial proteins was assessed according to Bradford method ([Bradford.;](#)  
159 [1976](#)): 50  $\mu$ l of mitochondria suspension containing 5 $\mu$ l of mitochondria and 45  $\mu$ l of water,  
160 was added to Coumassie Blue (CB) and then incubated for 15 minutes, after the  
161 measurement of absorbance was realized at 595 nm, versus the blank containing only 50  $\mu$ l  
162 of water. The protein concentration (mg/ml) was calculated graphically from the following  
163 equation:

$$164 Y=0.591 [\text{protein concentration}] +0.004 \quad r^2=0,998$$

165 After preparing a calibration range of BSA.

### 166 2.8. Antiproliferative assay

167 Antiproliferative activity of the isolated compound was performed *in vitro* on 4 cell lines; Human  
168 brain cancer (U118), colon cancer (Caco-2), ovarian cancer (SKOV-3), and healthy cell line  
169 Primary Human dermo Fibroblast (HDF) [American Type Culture Collection; ATCC,  
170 Manassas, VA, USA] using colorimetric MTT assay commercial Kits. However, commercial  
171 kits containing solutions of MTT and a solubilization reagent as well as MTT reagent powder  
172 are available from several vendors :CellTiter 96<sup>®</sup> Non-Radioactive Cell Proliferation Assay.  
173 Promega Corporation Cat.# G4000,Cell Growth Determination Kit, MTT based. Sigma-  
174 Aldrich Cat. # CGD1-1KT, and MTT Cell Growth Assay Kit. Millipore Cat.# CT02. Sigma,  
175 Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT Powder). Sigma-Aldrich Cat.# M2128.

### 176 2.9. Cell culture and conditions

177 Cell lines were cultured in Dulbecco's minimum essential medium (DMEM) with Earle's salts  
178 (MediatechCellgro®, Herndon, USA) supplemented with 10% (v/v) FBS (heat inactivated  
179 fetal bovine serum, Hyclone®, Logan, USA) and 1% penicillin (100 U/ml)/ streptomycin  
180 (100  $\mu$ g/ ml) (Mediatech®, Cellgro, VA) then incubated in humidified atmosphere at 37 °C  
181 with 5%  $\text{CO}_2$ , after harvesting cultured cells, cells were treated with trips in/EDTA solution

182 at 80-90% confluence, and cell viability was counted and cells were dispensed in 90µl of  
183 medium/well in 96-well plates (Corning®).

#### 184 2.10. MTT assay

185 Prepared cells (10000/well) and 10 µl of tested compound at different concentrations: 200  
186 µg/ml, 100 µg, 50 µg and 25 µg (diluted in 0.4 % DMSO), in 96-well plates containing a  
187 final volume of 100 µl/well were incubated for 48 hours, 10 µl MTT Solution per well was  
188 added to achieve a final concentration of 0.5 mg/ml, then an incubation of 3 hours at 37°C  
189 was carried out. Media and MTT were removed from wells and 100 µl Solubilization  
190 solution DMSO was added to each well, to dissolve formazan crystals. Record absorbance  
191 at 540 nm. The log (inhibitor concentration) versus normalized response graph was used to  
192 calculate IC<sub>50</sub> values.

#### 193 2.11. statistical analysis

194 All the results were represented as mean± SD and were evaluated using ANOVA variance  
195 analysis by GraphPad Prism software, version 7.0. P<0.05 were considered as significant.

### 196 3. Results and Discussions

#### 197 3.1. Scavenger effect of isocostic acid (1) by DPPH assay

198 Results of DPPH scavenging assay are represented in Figures 2 and 3, isocostic acid showed a  
199 very low scavenging effect at different concentrations (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup> and 10<sup>-5</sup> µM). Thus this  
200 compound can be considered as a pro-oxidant agent able to increase the generation ROS.

#### 201 3.2. Effect of isocostic acid (1) on superoxid anion production

202 Results of the superoxide anion generation by isocostic acid (1) are given in Figures 4. Isocostic  
203 acid (1) increases the generation of superoxide anion at all concentrations: 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, and 10<sup>-5</sup>  
204 µM respectively, with a high percentage production better than control. These results  
205 confirm the pro-oxidant effect of this product thus, it could be deduced that isocostic acid (1)  
206 acts at low and higher concentrations, which can lead to cell apoptosis that represents the  
207 desired effect in our study.

#### 208 3.3. Effect of isocostic acid (1) on mitochondrial swelling

209 Effect of isocostic acid (1) on mitochondrial permeability by mitochondrial swelling

210 measurement is represented in (Figure 5). After incubation of liver mitochondrial suspension  
211 with isocostic acid (1) at different concentrations ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ , and  $10^{-5}$   $\mu\text{M}$ ), we observed that  
212 the mitochondrial swelling increased significantly comparing with control characterized by  
213 the decrease in the absorbance of the mitochondrial suspension especially at the  
214 concentrations of  $10^{-1}$  et  $10^{-5}$   $\mu\text{M}$ , which could be explained by the increased permeability of  
215 the mitochondrial membrane leading to apoptosis through the opening of the MPTP pore  
216 which leads to an osmotic imbalance leading to the penetration of solutes (<1.5kDa) inside  
217 the mitochondria, as the matrix is rich in proteins there will be an increased entry of water  
218 into the matrix due to the establishment of a high osmotic pressure thus causing  
219 mitochondrial swelling by exerting pressure on the outer membrane as the crests of the inner  
220 membrane can unfold, this swelling is accompanied by a decoupling of the oxidative  
221 phosphorylation due to the increase in proton permeability, which leads to the dissipation of  
222 the protomotor force and the potential of the membrane (Lariche.; 2017). The value of  
223 mitochondrial total proteins was 20mg/ml.

#### 224 3.4. Antiproliferative effect of isocostic acid (1)

225  
226 Dysregulated apoptosis is the main cause of several aberrant cellular processes, especially  
227 tumorigenesis and chemoresistance. Phytochemicals have generally molecular targets in  
228 tumors cells and can interfere with their promotion and progression. This pleiotropism may  
229 constitute an advantage in the treatment of chemoresistant phenomenon. For example in  
230 ovarian cancer, multiple factors contribute towards dysregulated apoptotic response to  
231 chemotherapy, since the majority of patients with epithelial ovarian cancer are victims of  
232 chemoresistant disease. However, no complete mechanism has been defined to explain this  
233 chemoresistance and progression of the disease (Wahl et al.; 2006).

234 In our knowledge, antiproliferative activity of isocostic acid (1) isolated from *Dittrichia viscosa*  
235 (L.) Greuter has never been tested before. After 48h of treatment, results showed that this  
236 sesquiterpene acid was able to inhibit cell proliferation, in all cell lines tested at different  
237 concentrations (25 $\mu\text{g}$ , 50 $\mu\text{g}$ , 100 $\mu\text{g}$ , and 200 $\mu\text{g}$ ) by causing a dose-dependent cytotoxicity,  
238 with different potency versus 0.4 % DMSO solution used as negative control (Figure 6).  
239 However, U118 was the most sensitive cell line, since the highest antiproliferative effect of

240 isocostic acid (1) was registered for this cell line, in which the cell viability decreased clearly  
241 and sharply between 100 $\mu$ g (41.7321 $\pm$  2.0903%) and 200 $\mu$ g (3.8973 $\pm$ 0.63123%) with an  
242 IC<sub>50</sub> value of 72.32  $\mu$ g/ml. For both SKOV3 and CaCo2 cell lines, the viability also  
243 decreased between 100 $\mu$ g (58.8093 $\pm$ 5.4642% and 73.5678 $\pm$ 0.9085% respectively) and  
244 200 $\mu$ g (17.3286 $\pm$ 0.2700% and 17.8586 $\pm$ 1.5981% respectively), nevertheless the potency was  
245 different with IC<sub>50</sub>: 85.5  $\mu$ g/ml and IC<sub>50</sub>: 113.4  $\mu$ g/ml respectively. Regarding PDF cell line,  
246 the cell viability, decreased in same manner as well as the other tested cell lines, between  
247 100 $\mu$ g (54.2629 $\pm$ 1.8133%) and 200 $\mu$ g (11.6809 $\pm$ 0.1508%) with IC<sub>50</sub> value of 86.19  $\mu$ g/ml .  
248 As a result, these data suggest that isocostic acid (1) is a potent cytotoxic agent inducing  
249 glioma cell growth inhibition (Figure 7), since its IC<sub>50</sub> value in U-118 cell is < IC<sub>50</sub> in healthy  
250 cell line (PDF), thus it does not affect the healthy cells at this concentration (IC<sub>50</sub>:72.32  
251  $\mu$ g/ml), which represents a big advantage in cancer treatment with low side effects.  
252 Generally, plant extracts or pure compounds regards an interesting cytotoxic activity if  
253 IC<sub>50</sub><100  $\mu$ g (Boyed et al.; 1997). By analyzing the structure of our compound, the presence  
254 of some functionality in skeleton can explain high or low activity. However, we also know  
255 that cytotoxic activity depends on the nature of functionality groups, their number and their  
256 position, for this reason the presence of oxygenated functionality, methyl group and carbonyl  
257 groups in this sesquiterpene confer to it an apoptotic characters. Furthermore, most of the  
258 malignant glioma cells contain over expressed antiapoptotic proteins such as Bcl-2 and Bcl-  
259 XL, leading to resistance to apoptosis (Martin et al.; 2001), we deduce that the cytotoxic  
260 effect, could be due to the action of isocostic acid (1) as antagonist of antiapoptotic proteins  
261 Bcl-2 and Bcl-XL expressed by the tested cancers cell lines. According to Koehler *et al.*, 2014  
262 a synthetic compound, that contains an acid function and a naphthalene group in its structure  
263 as well as isocostic acid (1), seemed to be a potent antagonist of Bcl- XL, it occupied the  
264 protein groove by binding links involving its acid function with aminoacids of the later,  
265 indeed hydrogen bonds were made between the hydroxyl group and Arg 139 in addition to  
266 hydrogen bonds between carbonyl function and Asn 136.

267 As preliminary results, isocostic acid (1) can act as antiproliferative agent against cancerous cells,  
268 however for further studies it will be very interesting, to test antiproliferative activity of  
269 some others sesquiterpenes considered as cytotoxic molecules, against the same cell lines

270 used in this study, for comparison with the effect of isocostic acid (1) to define the best  
271 functionality groups, number and their position. Moreover to perform some transformations  
272 in order to increase the antiproliferative activity, such as tomentosin present in *Dittrichia*  
273 *viscosa* (L.) Greuter considered as a potent anticancer product. Also, regarding chemotherapy  
274 protocols, in which association of chemicals molecules is usually done, after several *in vitro*  
275 and *in vivo* tests and clinical validation, our sesquiterpene can be combined with another  
276 sesquiterpene to increase the effect acting sometimes by synergy.

### 277 3.5. NMR results

278 Compound 1. Yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C) δ = 0.81 ppm (singlet, 3H, H-  
279 14), δ 1.17-1.2 ppm (quartet, 1H, *J* = 12.5 Hz, H-6β), δ 1.27 ppm (doublet of triplet, 1H, *J* =  
280 4.1, 11.4 Hz, H-9α), δ 1.32-1.41 ppm (multiplet, 2H, H-8a, H-9β), δ 1.45 ppm (triplet, 1H, *J*  
281 = 3.4, 6.2 Hz, H-1β), δ 1.50-1.68 ppm (multiplet, 2H, H-1α, H-8β), δ 1.59 ppm (large  
282 singlet, 3H, H-15), δ 1.84-1.89 ppm (large doublet, 1H, *J* = 12.5 Hz, H-6α), δ 1.93-2.04 ppm  
283 (multiplet, 2H, 2H-2), δ 2.06- 2.18 ppm (multiplet, 1H, H-5α), δ 2.53 ppm (triplet of triplet,  
284 1H, *J* = 3.4, 11.8 Hz, H-7α), δ 5.33 ppm (large singlet, 1H, H-3), δ 5.70 ppm (large singlet,  
285 1H, H-13α), δ 6.39 ppm (large singlet, 1H, H-13β). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 15.64 ppm (C- 14);  
286 δ 21.16 ppm (C-15); δ 23.78 ppm (C-2); δ 27.39 ppm (C-8); δ 29.59 ppm (C-6); δ 32.26 ppm  
287 (C-10); δ 37.79 ppm (C-1); δ 40.58 ppm (C-9); δ 40.98 ppm (C-7); δ 47.87 ppm (C-6); δ  
288 121.5 ppm (C-3); δ 124.9 ppm (C-13); δ 134.75 ppm (C-4); δ 145.25 ppm (C-11); δ 172.00  
289 ppm (C-12). EI-MS-IT-TOF (70 eV): 293.2 ([*M*+CH<sub>3</sub>COO]).

### 290 5. Conclusion

291 This study demonstrated that *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter remains a very interesting source of  
292 sesquiterpenes acting as cytotoxic agent, which was confirmed by the ability of isocostic acid  
293 (1) to have an apoptotic character leading to exhibit *in vitro* a remarkable antiproliferative  
294 activity against various cell lines, especially brain cancer cell line U-118. From these  
295 preliminary data, we can consider that isocostic acid (1) can represent a potent anticancer  
296 sesquiterpene from *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter., but for better valorization of this product,  
297 further investigations should be carried out to explore molecular mechanism generating this  
298 antiproliferative effect, on these various cell lines using molecular docking, targeting anti-

299 apoptotic proteins, to determine the included function in this activity with *in vivo* studies, in  
300 order to obtain important informations for initiation of cytotoxic protocol development for  
301 therapeutic application.

## 302 **Acknowledgements**

303 The authors would like to thank GRSDT and MESRS (PNE), Algeria, Mrs Sara Zerrouki from  
304 Brothers Mentouri University of Constantine 1, Algeria.

## 305 **References**

- 306 Seca A.M.L., Grigore A., Pinto, D.C.G.A., Silva, A.M.S. 2014. The genus *Inula* and their metabolites: From  
307 ethnopharmacological to medicinal uses. *J. Ethnopharmacol*, 154, 286-310.  
308 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.010>
- 309 Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., Khelifi, D. 2016. Ethnobotanical investigations on plants used in folk  
310 medicine in the regions of Constantine and Mila (Noerth-East of Algeria). *J.Ethnopharmacol*, 194, 196-218.  
311 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.08.016>
- 312 Messaoudi, M., Chahmi, N., El Mzibri, M., Gmouh, S., Amzazi, S., Benbacer, L., El Hassouni, M. 2016.  
313 Cytotoxic Effect and Chemical Composition of *Inulaviscosa* from Three Different Regions of Morocco.  
314 *EJMP*, 16, 1-9. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2016/28340>.
- 315
- 316 Ozkan, E., Karakas, F.P., Yildirim, A.B., Tas, I., Eker, I., Yavuz, M.Z., Turker, A. 2019. Promising medicinal  
317 plant *Inula viscosa* L.: Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. *Prog NUTR*, 21,  
318 652-661. <https://doi.org/10.23751/pn.v21i3.7186>
- 319 Aissa, I., Nimbarte, V. D., Zardi-Bergaoui, A., Znati, M., Flamini, G., Ascrizzi, R., Ben Jannet, H. 2019. Isocostic  
320 acid, a promising bioactive agent from the essential oil of *Inula viscosa* (L.): Insights from drug likeness  
321 properties, molecular docking and SAR Analysis. *Chem Biodiversity*. e1800648, 1-16.  
322 <http://doi.org/10.1002/cbdv.201800648>
- 323
- 324 Lahouel, M., Amedah, S., Zellagui, A., Touil, A., Rhouati, S., Benyache, F., Leghouchi E., Bousseboua, H. 2006.  
325 The Interaction of New Plant Flavonoids with Rat Liver Mitochondria: Relation between the  
326 Anti- and Pro-oxydant Effect and Flavonoids Concentration, *Phytotherapy*, 61, 347-355.  
327 <https://doi.org/0.2515/therapie: 2006025>
- 328
- 329 [Lariche, N., Lahouel, M., Benguedouar, L., Zellagui, A.](#) 2017. Ferulenol, a Sesquiterpene Coumarin, Induce  
330 Apoptosis via Mitochondrial Dysregulation in Lung Cancer Induced by Benzo[a]pyrene: Involvement of  
331 Bcl2 Protein, [Anti-Cancer Agents Med Chem](#), 17, 1357-1362.  
332 <https://doi.org/10.2174/187152061710171002100330>
- 333
- 334 Ilyich, T., Charishnikova, O., Sekowski, S., Zamaraeva, M., Cheshchevik, V., Dremza, I., Cheshchevik, N.,  
335 Kiryukhina, L., Lapshina, E., Zavodnik, I. 2018. Ferutinin Induces Membrane Depolarization,  
336 Permeability Transition Pore Formation, and Respiration Uncoupling in Isolated Rat Liver  
337 Mitochondria by Stimulation of Ca<sup>2+</sup>-Permeability, *J. Membr. Biol*, 251, 563-57.  
338 <https://doi.org/10.1007/s00232-018-0032-0>
- 339 Berhail Boudouda, H., Benmerache, A., Chibani, S., Kabouche, A., Abuhamdah, S., Semra, Z., Kabouche, Z.  
340 2012. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oils of *Inula viscosa* (L.) Ait.  
341 (Asteraceae) from Constantine, Algeria, *Der Pharmacia Lettre*, 4, 1878-1882.

342 Zaki, M., Tebbaa, M., Hiebel, M.A., Benharref, A. Akssira, M., Berteina-Raboin,S.2014. Acid-promoted opening of  
343 4,5- and 3,4-epoxy eudesmane scaffolds from  $\alpha$ -isocostic acid. Tetrahedron. 71(13), 2035-2042. <http://doi.org/10.1016/j.tet.2014.12.061>.  
344  
345 Rustin, P., Chretien, D., Bourgeron, T., Gerard, B., Rotig, A., Saudubray, J.M., Munnich, 1994. Biochemical  
346 and molecular investigations in respiratory chain deficiencies, Clinica Chimica Acta, 228, 35-51.  
347 [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(94\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0009-8981(94)90055-8)  
348 Elimadi, A., Morin, D., Sapena, R., Chauvet-Monges, A.M., Crevat, A., Tillement, J.P.1997. Comparison of  
349 the effects of cyclosporine A and trimetazidine on  $Ca^{2+}$ -dependent mitochondrial swelling, Fundam  
350 Clin Pharmacol, 11, 440-447. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1997.tb00206.x>.  
351  
352 Zini, R., Morin, C., Bertelli, A., Bertelli, A. Tillement J. P. 1999. Effects of resveratrol on the rat brain respiratory  
353 chain. Drugs Exp Clin Res, 25, 87-97. PMID: 10370869  
354  
355 Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein  
356 utilizing the principle of protei -dye binding, Anal Biochem, 1976, 72, 248-254.  
357 [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)  
358  
359 Wahl,H., Tan, L., Griffith, K., Choi, M., Rebecca Liu, J. 2007.Curcumin enhances Apo2L/TRAIL-induced  
360 apoptosis in chemoresistant ovarian cancer cells, Gynecol,105, 104-112.  
361 <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.10.050>.  
362  
363 Boyd, M.R., The NCI in vitro anticancer drug discovery screen: concept, implementation, and operation, in:  
364 Teicher, B.A. (ED)., Anticancer Drug Development Guid: Preclinical Screening, Clinical Trials, and  
365 Approval, Human Press Totowa, NJ, 1997; pp. 23-42.  
382 Martin, S.J., and Green, D.R. 2001. Breaking the mitochondrial barrier, Nature Reviews Molecular cell  
383 biology, 2, 63-67. <https://doi.org/10.1038/35048069>.  
384

385

386

387

388

389

390

391

392

**Figure 1.** Structure of isocostic acid (1)

393

394

395

396

397

398

399

400

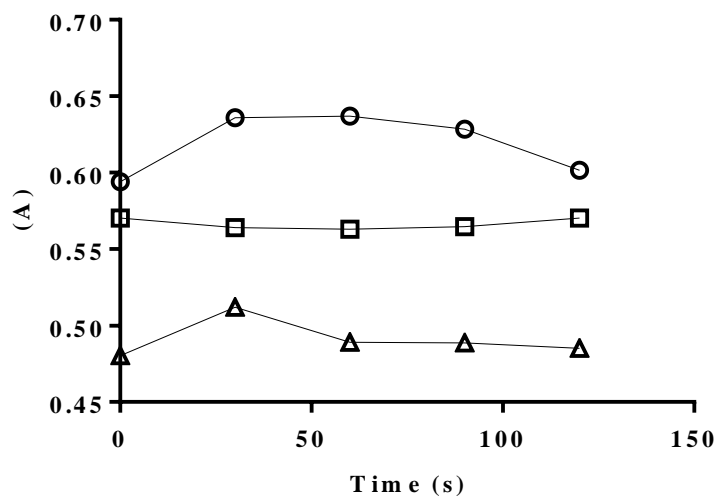


Figure 2. DPPH scavenging effect (%) of isocostic acid (1) at different concentrations (n=3)

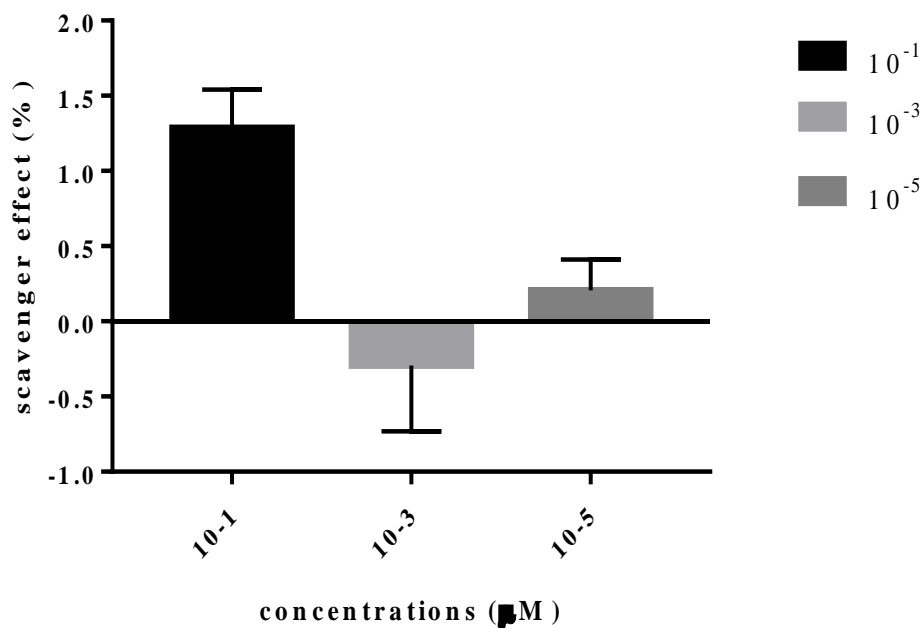
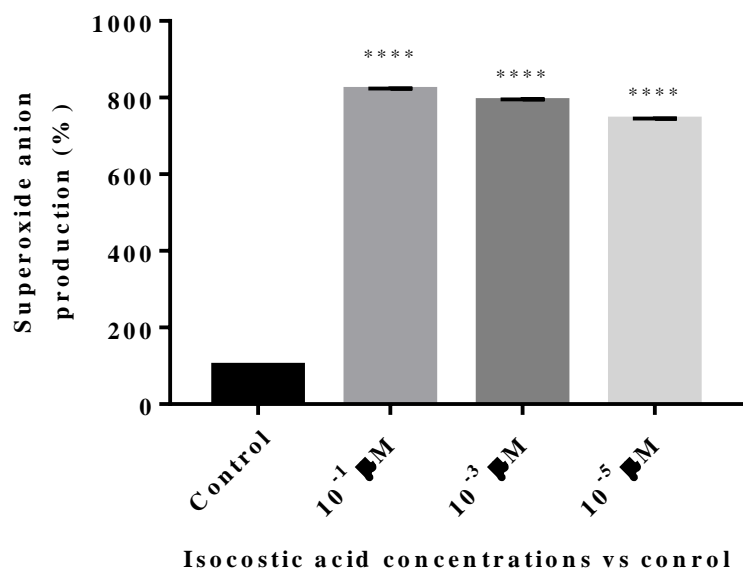


Figure 3. Absorbance of isocostic acid (1) in DPPH scavenging assay at different concentrations at 530 nm (n=3).





458  
459  
460  
461  
462  
463

**Figure 4.** Superoxide anion production percentage of isocostic acid at different concentrations versus control (\*\*\*\*: the difference is highly significant  $p < 0.0001$ )

464  
465  
466  
467  
468  
469  
470  
471  
472  
473  
474  
475  
476  
477  
478  
479  
480  
481  
482  
483  
484  
485  
486  
487  
488  
489  
490  
491  
492  
493  
494  
495  
496  
497  
498  
499  
500  
501  
502  
503  
504

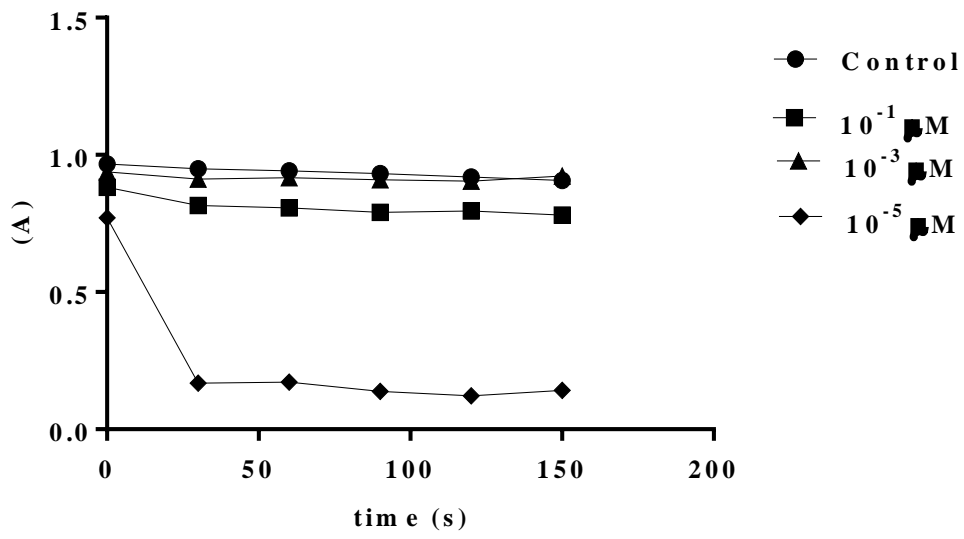


Figure 5. Liver mitochondrial swelling of isocostic acid (1) at different concentrations at 540 nm (n=3)

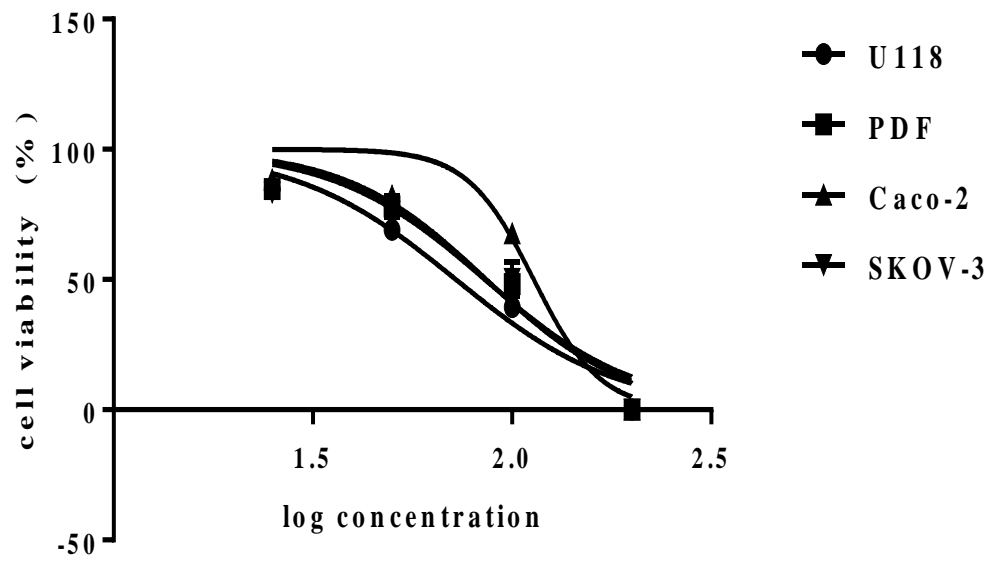
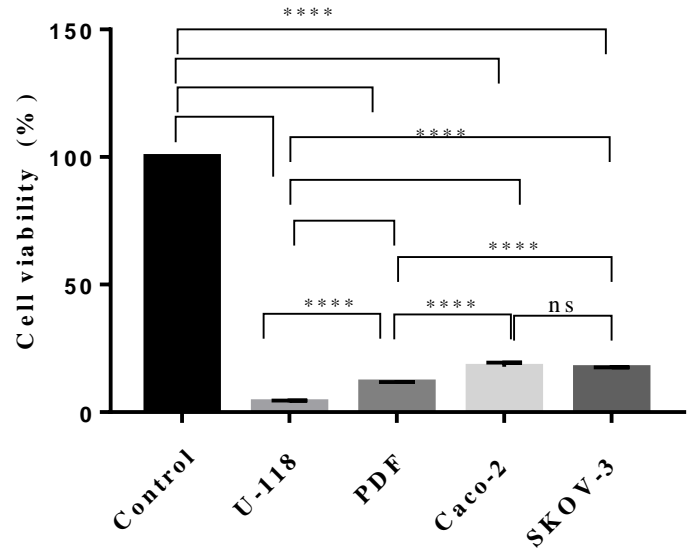


Figure 6. Cell viability percentage of the tested cell lines in presence of isocostic acid (1) at different concentration

505  
506  
507  
508  
509  
510  
511  
512  
513  
514  
515  
516  
517  
518  
519  
520  
521



**Figure 7.** Comparison of the cell viability percentage in the different tested cell lines at 200 mg/ml of isocostic acid (1) using one-way ANOVA test (\*\*\*\*: the difference is highly significant  $p < 0.0001$ ; ns: the difference is not significant  $p \geq 0.05$ )

**Nom et prénom :** Ouelbani Rayene

**Date de soutenance :** 25/10/2021

**Thème :** Criblage des plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine-Mila et valorisation phytochimique des plantes *Bellevalia mauritanica* Pomel ; endémique de l'Afrique du Nord et *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter

**Diplôme :** Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en Biochimie appliquée

### Résumé

La situation géographique privilégiée de l'Algérie lui confère une grande richesse floristique qui représente un atout pour la phytochimie, en outre jusqu'à nos jours la population Algérienne a recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes pour se soigner.

Le présent travail se divise en deux volets, le premier consacré à une enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales utilisées dans la région de Constantine et Mila et le deuxième comporte l'étude phytochimique de la plante endémique Nord-Africaine *Bellevalia mauritanica* Pomel, ainsi que l'évaluation de ses activités biologiques *in vitro*.

L'investigation ethnobotanique de la région de Constantine et Mila, nous a permis d'obtenir les résultats suivants : sur 102 plantes citées, 28 nouvelles espèces, 31 plantes communes avec 151 nouvelles applications thérapeutiques en comparaison avec d'autres régions en Algérie et 12 nouvelles espèces y compris une plante endémique *Zygophyllum cornutum* Coss., 75 plantes connues avec 369 nouveaux usages médicaux, en comparaison avec d'autres régions du bassin méditerranéen.

L'étude phytochimique de la plante *Bellevalia mauritanica* pomel par une chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse hybride à trappe d'ions et en temps de vol (LC-MS-IT-TOF) a indiqué la présence de 91 composés dans les différentes phases de l'extrait brut de la partie sous terrain et une méthode validée de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), utilisant 37 standards a révélé la teneur de la plante en acides phénoliques plutôt qu'en flavonoïdes, en effet la phase AcOEt contient l'acide caféique (1240,7 µg/g d'extrait) et la phase CHCl<sub>3</sub> contient la vanilline (2048,5 µg/g d'extrait) comme composés majoritaires, ainsi que l'évaluation de ses activités antioxydantes, anticholinestérase et antibactérienne *in vitro* a montré que parmi les extraits testés, la phase AcOEt présente une bonne activité antioxydante, notamment dans les tests ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et l'anion superoxyde DMSO (diméthylsulfoxyde) alcalin, une inhibition considérable de l'acétylcholinestérase et un effet antibactérien modéré.

**Mots clés :** Ethnobotanique ; *Bellevalia mauritanica* Pomel ; LC-MS/MS ; HPLC-MS-IT-TOF ; activités biologiques.

**Laboratoire de recherche :** Génétique Biochimie et Biotéchnologies Végétales - UFMCI

**Président :** CHIKHI Abdelouahab..... Prof. Université Frères Mentouri Constantine 1

**Directeur de thèse :** KHELIFI Douadi..... Prof. Université Frères Mentouri Constantine 1

**Co-directeur :** MOUAS Toma Nardjes..... MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1

**Examinatrice :** BELLIL Ines..... MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1

**Examineur :** BOUKELOUA Ahmed..... MCA. Université Larbi Ben M'hidi. Oum El Bouaghi