



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Chikh Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie Appliquée

MÉMOIRE FIN D'ÉTUDE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Screening phytochimique et activités biologiques de l'extrait de *Withania somnifera* (Ashwagandha)

Présenté par :

M^{elle} :BOUKHATEM Inas

M^{elle} : BORDJI Ahlam

Devant le jury :

Dr. Bouzeraa Hayette	MCA	Université Echahid Chikh Larbi Tébessi	Présidente
Dr. Guedri Kamilia	MCA	Université Echahid Chikh Larbi Tébessi	Promotrice
Dr. Benaïcha Brahim	MCB	Université Echahid Chikh Larbi Tébessi	Examineur

Date de soutenance : 05/06/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant qui nous a donnés la force et la foi pour mener à bien ce projet.

Au terme de cette étude, nous tenons à adresser nos profondes reconnaissances à toutes nos familles qui nous ont soutenues, aidées et encouragées tout au long de ce travail.

*Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances au docteur **GUEDRI Kamilia***

Tout d'abord pour nous avoir fait confiance et pour nous avoir inspirer le sujet ensuite pour ses conseils précieux, ses orientations judicieuses et ses directives efficaces, ainsi que pour les réflexions avisées qu'elle nous ont Apportées.

*Nous tenons a remercié les membres de jury qui vont charger d'examiner et corriger ce mémoire Madame **BOUZERAA Hayette** pour avoir accepté de présider le jury et Mr. **BENAICHA Brahim** pour avoir accepté d'examiner ce travail, nous vous remercions énormément et nous sommes très heureuses et fières de présenter notre travail devant des enseignants ainsi compétents comme vous, merci beaucoup encore*

*Nous tenons à remercier Madame **SAYADA Nardjis** pour nous avoir autorisé à prélever les produits nécessaires à notre projet dans son laboratoire de recherche, nous remercions également l'équipe du laboratoire de Biochimie de l'université de Tébessa.*

Enfin, nous remercions tous ceux qui reconnaissent leur contribution à la réalisation de ce travail





Dédicace

Celui qui dit que je suis à elle l'a eu

Le voyage n'a pas été court et ne devrait pas l'être ,le rêve n'était pas proche et le chemin n'était pas facile , mais je l'ai fait et je l'ai réalisé

Tout d'abord , je voudrais remercier le Dieu tout-puissant de m'avoir donné le courage , la force et la patience d'accomplir cet humble travail que j'ai consacré et un merci spécial à :

À mon père Mostapha ♥

Merci d'être mon père ,merci pour tout ce que tu m'as donné gratuitement ,merci pour le soutien matériel et moral , je suis fière d'être la fille d'un homme comme toi

Acelle qui à le paradis sous les pied (ma mère walida) ♥

Source de force de ma vie , merci pour tous les sacrifices , Que Dieux vous bénisse ,je t'aime Beaucoup

À ma tante et ma deuxième mère khmissa ♥:

La plus merveilleuse tante du monde , merci d'être dans ma vie ,je t'aime Beaucoup et je te souhaite une longue vie

Mes soeurs ASSil , ChiRine et mon frère Mohamed ♥:

je t'aime Beaucoup , je te souhaite à tous succès et bonheur dans ta vie

*À ma copine (Toma) ♥:merci d'être dans ma vie ,je t'aime
À ma cousine et l'ami d'enfance (Achwak) ♥: que dieux vous accorde la réussite dans votre voyage*

*À mes tante (Souad , RawDa) ♥: merci de me soutenir
À mes cousines ♥: (Zaki ,Yassine , Hanine , Aya , islam ,issra , rahime , RaWane ,ALLa , ouwayess) je t'aime beaucoup , Que Dieu te protège*

À Mon chère binôme (ines) ♥: merci d'être à mes côtés

Ahlam





Dédicace

Le voyage n'a pas été court et n'aurait pas dû l'être, le rêve n'était pas à portée de main et la route était semée d'embûches, mais je l'ai fait et je l'ai obtenu.

Je dédie cet humble travail à :

Avant tout, je remercie Dieu tout-puissant qui m'a donné la santé, la patience et le courage de faire ce travail.

*À celui qui a orné mon nom des plus beaux titres, qui m'a soutenu sans limites et m'a donné gratuitement
A celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est le savoir et
la connaissance,
à celui qui a inculqué à mon âme les vertus de la moralité, mon premier soutien dans mon parcours,
mon appui et ma force après Dieu.*

*A ma fierté et à mon honneur : **Mon cher père***

*À celle qui a mis le paradis sous ses pieds, qui m'a embrassé avec son cœur avant ses mains
et qui a soulagé mon adversité par ses prières.*

*Au secret de ma force et de mon succès : **Ma mère bien-aimée***

*À mes côtes solides et à la sécurité de mes jours, à ceux qui m'ont fortifiée et qui ont été des
sources aux
quelles mes sœurs ont pu s'abreuver : **Imene , Chaima***

*Au meilleur de mes jours, à la prunelle de mes yeux, mon frère : **Jihad***

*À Sindi, le compagnon de mes années douces et amères et le compagnon de l'adversité : **Zaherdiene***

*À toute ma famille et mes amis : **Asmahen, Khaowla, Mourad, Nouredine, Rawan***

*À mon partenaire dans ce travail : **Ahlam***

*À tous ceux qui m'ont aidé ou encouragé tout au long de mes études
Merci d'avoir toujours été là pour moi.*

Inas



Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules d'origines naturelle. La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore Algérienne, on s'est intéressé à l'étude du *Withania somnifera* (Ashwagandha) cultivé dans la région d'El Oued et dotée d'une grande importance pharmacologique dans le monde mais reste mal connu en Algérie.

Nous avons procédé en un premier temps à une étude ethnobotanique dans la région de Tébessa, et en second temps à un screening phytochimique et activités biologiques de la plante.

Le criblage phytochimique par les tests colorimétriques ont révélé la présence des métabolites secondaires suivants : les flavonoïdes glycosides, les saponines, les mucilages, les leuco-anthocyanes, les phénols, les alcaloïdes, les coumarines, les anthocyanes, les saponosides et les glycosides, qui sont susceptibles d'exprimer les activités biologiques recherchées.

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait méthanolique de *W. somnifera* est riche en flavonoïdes avec une teneur égale à 24.20 µg EQ/g exprimée en équivalent du quercetine.

L'extrait méthanolique de l'Ashwagandha est testé pour ses activités anti inflammatoires *in vitro* par l'évaluation de sa capacité à protéger le sérum albumine bovine (BSA) contre la dénaturation thermique. D'après les résultats, l'extrait de notre plante inhibe la dénaturation du BSA avec un taux de 66% à 2500 µg/mL.

L'activité anti-radicalaire a été évaluée à travers le test du piégeage du radical libre DPPH. D'après les résultats, l'extrait est doté d'un potentiel anti-radicalaire et antioxydant modéré avec un IC50 égale à 32.18µg/ml par rapport à l'antioxydant standard l'acide ascorbique.

Mot clés : *Withania somnifera* ; Screening phytochimique ; Flavonoïdes totaux ; Pouvoir antioxydant ; Activité anti- inflammatoire.

Abstract

Much of the interest in current research concerns the study of molecules of natural origin. The present study is part of the valorization of medicinal plants of the Algerian flora, we were interested in the study of *Withania somnifera* (Ashwagandha) cultivated in the region of El Oued and endowed with great importance pharmacological in the world but remains poorly known in Algeria.

Phytochemical screening by colorimetric tests revealed the presence of the following metabolites: flavonoid glycosides, saponins, mucilages, leucoanthocyanins, phenols, alkaloids, coumarins, anthocyanins, saponosides and glycosides, which are likely to express the desired activities.

Quantitative estimation of total flavonoids by the aluminum trichloride method reveals that the methanolic extract of *W. somnifera* is rich in total flavonoids with a content equal 24.20 µg EQ/g expressed as quercetin equivalent.

The methanolic extract of Ashwagandha is tested for its in vitro anti-inflammatory activities by evaluating its ability to protect bovine serum albumin (BSA) against thermal denaturation. According to the results: the extract inhibits the denaturation of BSA with a rate of 66% at 2500µg/mL.

The anti-radical activity was evaluated through the DPPH free radical scavenging test. According to the results, the extract has a moderate anti-radical and antioxidant potential with an IC₅₀ of 32.18µg/ml compared to the standard antioxidant ascorbic acid.

Keywords: *Withania somnifera*; Phytochemical screening; Total flavonoids; Antioxidant power ;Anti-inflammatory activity.

الملخص

لدراسة الحالية هي جزء من تثمين النباتات الطبية الجزائرية، وفي دراستنا هذه اهتمنا بدراسة وثنانيا سومنيفيرا (أشواغاندا) المزروعة في منطقة الوادي والتي تتمتع بأهمية دوائية كبيرة في العالم ولكنها لا تزال غير معروفة في الجزائر

اجرينا أولاً دراسة نباتية عرقية للأشواغاندا في منطقة تبسة، وثنانياً فحصاً كيميائياً وأنشطة بيولوجية للنبات.

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن طريق الاختبارات اللونية عن وجود المستقبلات الثانوية التالية: جليكوسيدات الفلافونويد، السابونين، المواد الهلامية، ليوكو أنثوسيانين، الفينولات، القلويدات، الكومارين، الأنثوسيانين، السابونوسيدات والجليكوسيدات، والتي من المحتمل أن تعبر عن الأنشطة البيولوجية المطلوبة.

كشف التقدير الكمي لإجمالي لمركبات الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم أن المستخلص الميثانولي للأشواغاندا غناها بالفلافونويدات بتقدير يساوي 24.20 ميكروغرام / جرام معبراً عنه بمكافئ كيرسيتين.

تم اختبار المستخلص الميثانولي للأشواغاندا لمعرفة أنشطته المضادة للالتهابات من خلال تقييم قدرته على حماية ألبومين المصل البقري (BSA) ضد تمسخ الطبيعة الحرارية. وفقاً للنتائج، فإن مستخلص نباتنا يمنع تمسخ BSA بمعدل 66% عند تركيز 2500 ميكروغرام/مل.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH لملاءمة الجذور الحرة. وفقاً للنتائج، فإن المستخلص لديه إمكانات معتدلة مضادة للجذور ومضادات الأكسدة مع IC50 يساوي 32.18 ميكروغرام / مل مقارنة بحمض الأسكوربيك المضاد للأكسدة القياسي.

الكلمات المفتاحية : اشوجندا; فحص كيميائي نباتي ; مجموع مركبات الفلافونويد ; قوة مضادة للأكسدة مضاد للالتهابات.

Liste des Figures

Figure N°	Titre	Page
1	<i>Withania somnifera</i> (Feuilles et racine)	5
2	Étymologie de l'Ashwagandha	6
3	Distribution de <i>W. somnifera</i> (les points jaunes indiquent la distribution de la plante)	7
4	Répartition de l'usage ethnomédical de <i>W. somnifera</i> dans les pays africains et applications de la plante dans certains pays	7
5	Plante de <i>Withania somnifera</i> : (A) plante ; (B) racines et poudre de racine ; (C) fleurs ; (D) feuilles ; (E) et fruits	8
6	Description botanique de <i>W. somnifera</i>	9
7	Les Substances phytochimiques de <i>Withania somnifera</i>	11
8	Composés bioactifs dans les différentes parties de la plante	11
9	Structures chimiques de certains dérivés de withanolide isolés à partir de <i>Withania somnifera</i>	12
10	Effets pharmacologiques du <i>Withania somnifera</i>	12
11	Activité anti-stress et adaptogène de <i>W. somnifera</i>	13
12	Activité antimicrobienne de <i>W. somnifera</i>	14
13	Effet immunomodulateur de <i>W. somnifera</i>	15
14	Activité neuroprotectrice, antiparkinsonienne et anti-Alzheimer de <i>W. somnifera</i> .	16
15	Activité anticancéreuse de <i>W. somnifera</i>	17
16	Activité cardio-protectrice de <i>W. somnifera</i>	18
17	Activité anti-inflammatoire et anti-arthritique de <i>W. somnifera</i>	19
18	Activité antidiabétique de <i>W. somnifera</i>	20
19	Les racines du L'Ashwagandha (Mars 2024) .	23
20	Les étapes de préparation de l'extrait méthanolique	24
21	L'extrait méthanolique des racines de <i>Withania somnifera</i> ont une couleur et un aspect différents	24
22	Protocole de l'étude expérimentale.	25
23	Préparation du AlCl ₃ et test flavonoïdes totaux Après 10min d'incubation à 37°C	29
24	Résultats socio-démographique	32
25	Résultats sur la reconnaissance et la consommation de l' <i>Ashwagandha</i> par la population	33

26	Résultats sur les types utilisation et maladie chronique de <i>W. somnifera</i>	34
27	Manière de consommation et dose journalière de <i>l'Ashwagandha</i> .	34
28	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait de <i>W.somnifera</i> et acide Ascorbique.	40
29	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA de l'extrait méthanolique de <i>W.somnifera</i> et du standard (diclofenac).	42

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
1	Classification de <i>Withania somnifera</i>	9
2	Les principaux constituants de <i>Ashwagandha</i>	10
3	Réactifs chimique utilisés	22
4	L'extraits méthanolique des racines de <i>Withania somnifera</i> ont une couleur et un aspect différents	24
5	Screening phytochimique	26
6	Rendement de l'extrait méthanolique de <i>Ashwagandha</i>	35
7	Résultats du screening phytochimique du <i>W.somnifera</i>	36
8	Teneurs en flavonoïde d'extrait méthanolique de l' <i>Ashwagandha</i> (1mg/mL)	39
9	Valeurs des IC50 de l'extrait méthanolique de <i>W. somnifera</i> et du standard	40

Liste Des Abréviations

BSA : Albumine de sérum bovin

CAT : Catalase

Cl₃COOH : Acide trichloroacétique

CRP : Protéine C-réactive

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

Fe: Fer

GP_x : Glutathion peroxydase

GTX : Cytotoxique

K: Potassium

K₃Fe: Ferricyanure de potassium

Kcl : Chlorure de potassium

KH₂PO₄ : Phosphate de potassium monobasique

m/v: masse par volume

mg EC/g MS: milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche

mg ER/gE : milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait

Mg: Magnésium

Na₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de sodium

Ni : Nickel

SOD : Super oxyde dismutase

Ws: *Withania somnifera*

Table des matiers

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Partie 1: Synthèse bibliographique

Chapitre I: Les plantes médicinales

1. Généralités.....	2
2. Définition	2
3. Domaines d'application	2
4. La phytothérapie	3
4.1. Définition.....	3
4.2. Types de la phytothérapie	3
4.3. Avantages de la phytothérapie	3
4.5. Inconvénients de la phytothérapie	4

Chapitre 2 : Généralité sur *Withania somnifera* (Ashwagandha)

1. Historique	5
2. Définition	Error! Bookmark not defined.
3. Étymologie	6
4. Nom botanique de l'Ashwagandha	6
5. Noms vernaculaire.....	6
6. Répartition géographique	7
7. Description Botanique.....	8

8.	Classification Taxonomique	9
9.	Composition chimique et pharmacologie	10
9.1.	Phyto chimie (Composition chimiques)	10
9.2.	Pharmacologie.....	12
10.	Toxicité de <i>l'Aswaghandha</i>	20

Partie 2: Etude expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthode

1.	Enquête ethnobotanique	21
2.	Description de la zone de la récolte et lieu de stage.....	21
3.	Matériels	21
3.1.	Matériels non biologique	21
4.	Méthode d'analyse.....	23
4.1.	Préparation et conservation du matériel végétal (Broyage).....	23
5.1.	Analyse qualitative.....	26
6.	Caractérisation quantitative des extraits.....	28
6.1.	Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium	28
7.	Les activités biologiques <i>in vitro</i>	29
7.1.	Evaluation de l'Activité anti-inflammatoire	29
7.2.	Evaluation de l'activité antioxydante.....	30

Chapitre 02: Résultats et discussions

1.	Résultats.....	32
1.1.	Résultats de l'enquête ethnobotanique.....	32
1.2.	Calcul du Rendement de l'extrait.....	35
1.3.	Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées	36
1.4.	Taux des flavonoïdes totaux	39
1.5.	Activité antioxydant <i>in vitro</i>	39
1.6.	Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	41

1.6.1. Inhibition de la dénaturation du BSA.....	41
Conclusion et perspectives.....	44
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction



La recherche des substances naturelles à des fins thérapeutiques remonte à des milliers d'années, et les plantes médicinales occupent une place prépondérante dans ce domaine. L'objectif de ces recherches est de repérer les substances bioactives présentes dans les plantes et d'évaluer leur influence thérapeutique.

La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (Merzoug, 2009). L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en thérapie traditionnelle (Konkon *et al.*, 2006). En effet, Les plantes avec leur nombre illimité constituent réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et d'activité biologique. Dans ce contexte, l'une des plantes les moins étudiées en Algérie *Withania somnifera*, plus communément appelée Ashwagandha, cette plante, appartenant à la famille des Solanaceae, est réputée pour ses propriétés adaptogènes, anti-inflammatoires, antioxydantes, immunomodulatrices (Mirjalili *et al.*, 2009) et anticancéreux (Prakash *et al.*, 2002 ; Jayaprakasam *et al.*, 2003).

Malgré les nombreuses études sur la *Withania somnifera* dans le monde, mais il y a un manque dans les recherches en Algérie. Ainsi, il est légitime d'effectuer une étude approfondie sur le screening photochimique et les activités biologiques des extraits de *Withania somnifera* Algérienne afin de mieux comprendre et exploiter ses propriétés médicinales.

Dans ce contexte, et afin de mieux apprécier la qualité biologique des l'extraits du racines de l'Ashwagandha. La présente étude se base sur la valorisation de cette espèce prélevée de la région d'Eloued. Pour cela nous avons évalué l'usage de la phytothérapie par la réalisation d'une enquête ethnobotanique dans la région de Tébessa, nous avons procéder à un screening phytochimique de quelques métabolites secondaire particulièrement les flavonoïdes. Aussi nous avons testé quelques activités biologiques : l'activité antioxydante et anti inflammatoire.

Notre manuscrit est donc réparti en deux parties : Le premier partie sera réservé à une synthèse bibliographique où nous apportons des généralités sur les plantes médicinales et sur notre plante *Withania somnifera*. Le deuxième partie présente les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail, les résultats obtenus, discussion et une conclusion et perspectives.

Partie 1 : Synthèse Bibliographique



Chapitre 1: Les plantes médicinales



1. Généralités

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remède pour les maladies humaines, parce qu'elles contiennent des composantes de valeurs thérapeutiques. En effet, depuis toujours, les plantes ont constitué la source majeure de médicaments, grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique. L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations récoltées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement guérit le malade (**Bruneton, 1993**).

2. Définition

La plante médicinale est toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs, pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Cavin, 1999**). Elles continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Fouché et Hambuché, 2000**).

3. Domaines d'application

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mises à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composées on retrouve, dans une grande mesure, les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Iserin, 2001**). Ces produits sont utilisés en médecine conventionnelle en tant que médicaments pour l'homme : en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux et pour les systèmes cardiovasculaires. Quant aux maladies du stress, des activités antioxydants ont été prouvées avec le thé noir, le thé vert et le cacao qui sont riches en composés phénoliques.

En cosmétique, de nombreux produits de beauté, parfums et articles de toilettes et produits d'hygiène sont à base de plantes.

4. La phytothérapie

4.1. Définition

La phytothérapie est une branche de la médecine qui repose essentiellement sur l'emploi thérapeutique de plantes dites « médicinales ». Consommées sous différentes formes, les plantes traitent ou soulagent différents troubles mineurs. Elles sont utilisées en complément d'une prise en charge médicale adaptée (**Favier, 2003**).

4.2. Types de la phytothérapie

Il existe plusieurs types de phytothérapie :

- **Aromathérapie**: Elle utilise les essences des plantes, appelées huiles essentielles. Ces substances aromatiques sont extraites par distillation. Il faut cependant utiliser l'aromathérapie avec précaution et respecter les doses prescrites. L'utilisation la plus fréquente est l'application par voie cutanée.
- **Gemmothérapie** : Elle consiste à utiliser les extraits alcooliques et glycéринés de jeunes pousses de végétaux ou de bourgeons. Ces extraits sont alors dilués au dixième pour pouvoir être utilisés en tant que plantes médicinales.
- **Herboristerie**: Ce type de phytothérapie est le plus classique et le plus ancien. Elle se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit en partie. Une préparation d'herboristerie repose sur des méthodes simples, le plus souvent avec de l'eau comme les infusions, les décoctions, les macérations et les gélules peuvent être également trouvées.
- **Homéopathie** : Elle a recours aux plantes mais pas uniquement. Les plantes fraîches sont utilisées après une macération alcoolique.
- **Phytothérapie chinoise** : Elle inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Elle vise à modifier les quantités et les actions des différentes énergies de l'organisme.
- **Phytothérapie pharmaceutique** : Elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et par dilution. Celle-ci consiste à se servir de doses suffisamment importantes de végétaux pour avoir une action soutenue et rapide. Les concentrations sont alors élevées, parfois proches de la limite assurant que le médicament n'est pas toxique pour l'organisme.

4.3. Avantages de la phytothérapie

- Une médecine totalement naturelle
- Alternative aux médicaments "lourds" des laboratoires pharmaceutiques
- Peu d'effets secondaires
- Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car elles sont utilisées dans la fabrication des médicaments plus efficaces pour traiter des malades graves.

4.5. Inconvénients de la phytothérapie

- Les plantes comportent des dizaines de molécules qui interagissent entre elles, il est donc plus difficile de les mélanger ; deux organes d'une même plante peuvent même avoir des indications totalement différentes
- Certaines plantes sont plus riches en principes actifs l'été que l'hiver. Certains laboratoires mélangent alors les différentes récoltes. Les préparations peuvent alors dans les meilleurs des cas, ne pas contenir suffisamment de principes actifs et dans les pires des cas, en contenir trop, ce qui peut être toxique pour l'homme.

*Chapitre 2 : Généralité sur **Withania somnifera** (Ashwagandha)*



1. Historique

L'Ashwagandha est originaire des régions sèches de l'Inde, et l'espèce est également originaire d'Australie, d'Asie de l'Est et d'Afrique. L'histoire de l'Ashwagandha est liée à l'histoire de l'Ayurveda. Son utilisation remonte à environ 3000 à 4000 ans en Inde. C'est une plante très importante dans l'Ayurveda, la médecine traditionnelle indienne (Ambrose *et al.*, 2016).

Non seulement la médecine ayurvédique utilise l'Ashwagandha, mais aussi la médecine chinoise en est également fan depuis des années. C'est une plante adaptogène typique qui a pour effet d'augmenter l'adaptabilité et la résistance à divers stress (Bhumija., 2022).

2. Définition

L'Ashwagandha est une plante de la famille des solanacées et appartient au genre des "*Withania somnifera*". Plus connue sous le nom de "ginseng blanc" ou "ginseng indien" de par sa ressemblance, c'est un remède incontournable en médecine traditionnelle ayurvédica, notamment pour lutter contre le stress et tonifier l'organisme. Elle est surnommée "la feuille de guérison" pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Elle se différencie du ginseng par son impact sur le système nerveux, et est par conséquent, adaptée aux personnes souffrant de stress chronique. Utilisée depuis déjà des millénaires, elle continue à être utilisée dans de nombreux médicaments et produits thérapeutiques (Bio, 2023).



Figure 1: *Withania somnifera* (Feuilles et racine) (Shibu Narayan & Charan, 2018).

2. Étymologie

L'origine du mot *Withania* est douteuse, tandis que *somnifera* fait référence à la propriété narcotique des feuilles de la plante.

Le nom "*ashwagandha*" est une combinaison des deux mots sanskrits "*ashva*", qui signifie cheval, et "*gandha*", qui fait référence à l'odeur, ce qui signifie que les racines ont une odeur d'urine de cheval (Scartezzini & Speroni, 2000) .

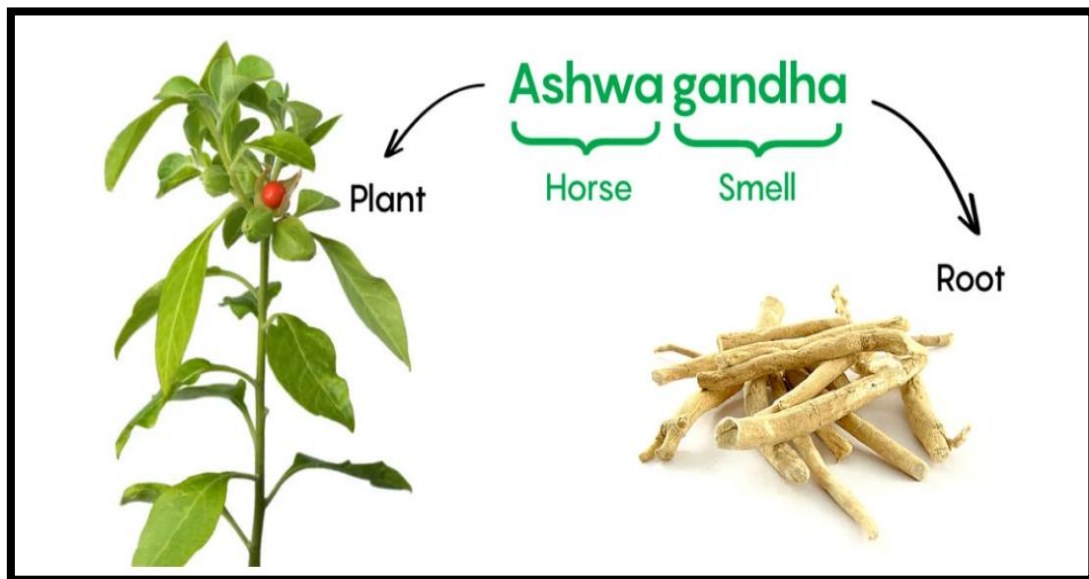


Figure 2: Étymologie de l'*Ashwagandha* (krshak exports, 2022).

3. Nom botanique de l'*Ashwagandha*

- **Nom scientifique:** *Withania somnifera*
- **Nom commun :** Ashwagandha
- **Autre(s) nom(s) :** Ginseng indien, cerise d'hiver, coqueret somnifère, roi d'Ayurveda, *Physalis flexuosa*.
- **Origine:** Inde
- **Partie(s) utilisée(s) :** Essentiellement les racines (Séché) (Ashwagandha : origine, vertus et bienfaits, 2020).

4. Noms vernaculaire

- **Arabe :** الاشوجندا
- **Anglais :** Winter cherry

- Français: Ashwagandha, withania, ginseng indien (Xavier, 2023 ; Saiyed *et al.*, 2016).

5. Répartition géographique

Dans le monde entier, *W. somnifera* est largement répandu, allant de la région sud de la Méditerranée à l'île des Canaries et de la région orientale de la Méditerranée au Nord de l'Inde, de la Palestine, d'Israël, de la Jordanie, de l'Égypte, du Soudan, de l'Iran, de l'Afghanistan, du Baloutchistan et Pakistan. En Inde, la plante sauvage se trouve dans les régions du nord-ouest qui s'étendent jusqu'aux régions montagneuses du Jammu, du Pendjab et de l'Himachal Pradesh, à une altitude de 1500 mètres (Bano *et al.*, 2015).

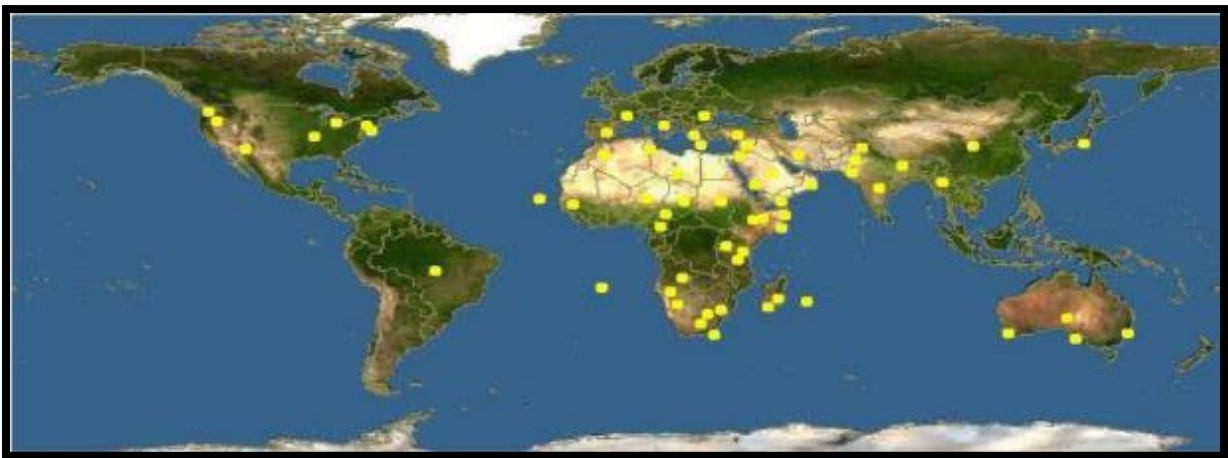


Figure 3: Distribution de *W. somnifera* (les points jaunes indiquent la distribution de la plante (Aslam, *et al.*, 2017) .

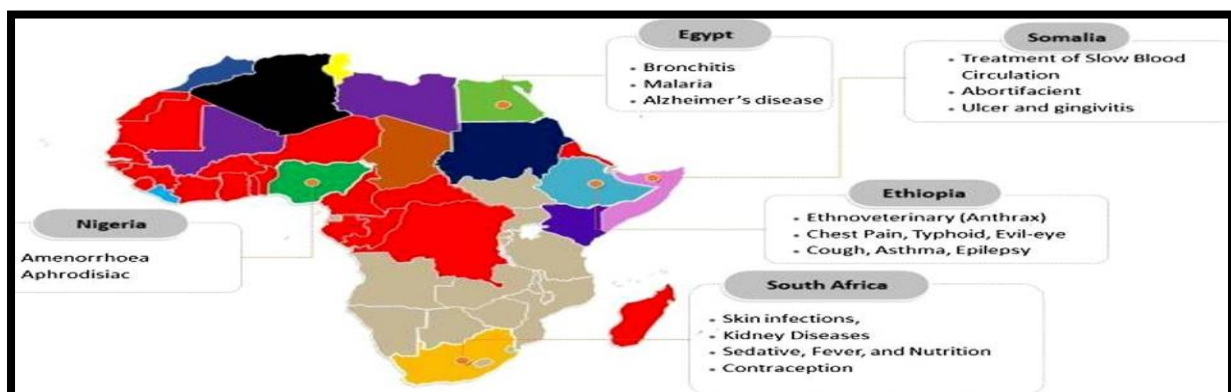


Figure 4: Répartition de l'usage ethnomédical de *W. somnifera* dans les pays africains et applications de la plante dans certains pays (Afewerky, *et al.*, 2021) .

6. Description Botanique

Le *Withania somnifera* est un petit arbuste ligneux, érigé, ramifié, à feuilles persistantes et à tumescence, qui peut atteindre 150-170 cm de haut et que l'on trouve dans toutes les parties sèches de l'Inde, dans les terrains vagues et sur les digues. Les racines sont robustes, charnues et de couleur brun blanchâtre. Les feuilles sont simples, pétiolées, elliptiques à largement ovales, entières, exstipulées, cunéiformes ou obliques, glabres, jusqu'à 10 cm de long, celles de la région florale sont plus petites et opposées. Fleurs discrètes, verdâtres ou jaune lubrède, pédicellées, 4-6 mm de diamètre, axillaires, en ombelles et en cymes terminées, se présentant en 5-25 grappes. Les baies sont petites, globuleuses, rouge-orange vif à maturité, 5 mm de diamètre, enfermées dans le calice persistant contenant de nombreuses graines. Les graines sont petites, lisses, jaunes, réniformes, longues de 2 mm, larges de 1,5 à 2 mm et épaisses de 0,5 mm (Garje *et al.*, 2022).

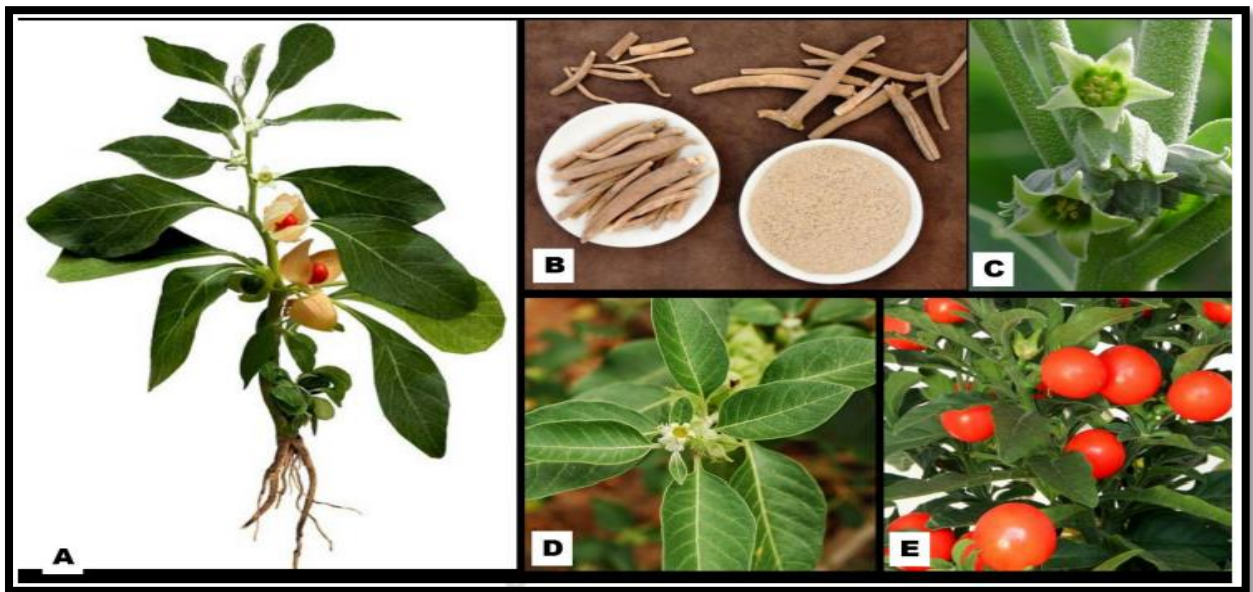


Figure 5: Plante de *Withania somnifera* : (A) plante ; (B) racines et poudre de racine ; (C) fleurs ; (D) feuilles ; (E) et fruits (Sengupta *et al.*, 2018).



Figure 6: Description botanique de *W. somnifera* (Gaurav, *et al.*, 2023) .

7. Classification Taxonomique

Il existe plus de 60 espèces de plantes dans le genre *Withania*, qui fait partie de la famille des Solanacées. *W. somnifera* et *W. coagulans* sont deux de ces espèces fréquemment évoquées dans l’Ayurveda. Vous trouverez ci-dessous la classification taxonomique de *l’ashwagandha* (Poojari *et al.*, 2019) .

Tableau 1: Classification de *Withania somnifera* (*Ashwagandha*) (Meena, *et al.*, 2020).

Hiérarchie taxonomique	Nom scientifique
Règne	Plantae (Plantes)
Sous-règne	Trachéobionte
Super division	Spermatophytes
Division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Tubiflores
Famille	Solanacées
Genre	<i>Withania</i>
Espèce	<i>somnifera</i>

8. Composition chimique et pharmacologie

8.1. Phyto chimie (Composition chimiques)

L'analyse phytochimique de *W. somnifera* suggère qu'elle possède différents constituants chimiques dans les différentes parties de la plante et dont certains constituants majeurs sont discutés ci-dessous. Les études suggèrent également qu'une grande partie des constituants chimiques est basée sur plus de 12 alcaloïdes, 40 withanolides et plusieurs sitoindosides (Memon, 2022) .

Tableau 2: Les principaux constituants de l'Ashwagandha (Dar & Ahmad., 2015).

Alcaloïdes	Withanine, withananine, withasomnine, somniférine, tropeltigloate, somniférine, somnine et nicotine
Stéroïdien Lactones	Withaferin-A, withanone, withanolide-E, avecanolide-F, avecanolide-A, avecanolideG, avecanolide-H, avecanolide-I, avecanolide-J, avecanolide-K, avecanolideL, avecanolide-M
Stéroïdes	Cholestérol, β -sitostérol , stigmastérol, diosgénine, stigmastadien, sitoïnosides VII, sitoïnosides VIII, sitoïnosides IX, sitoïnosides X
Sels	Cuscohygrine, anahygrine, tropine, pseudotropine, anaferine
Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine
Les composés contenant de l'azote composés	Withanol, somnisol et somnitol



Figure 7 : Les Substances phytochimiques de *Withania somnifera* (Baht *et al.*, 2022).

Figure 8: Composés bioactifs dans les différentes parties de la plante (Sharifi-Rad, *et al.*, 2021).

Plant parts	Compounds
Roots	Withanolide A, withanolide B, 27-hydroxy withanolide B, withanolide D, withaferin A, 16 β -acetoxy-6 α , 7 α -epoxy-5 α -hydroxy-1-oxowitha-2, 17 (20), 24-trienolide, 5, 7 α -epoxy-6 α , 20 α -dihydroxy-1-oxowitha-2, 24-dienolide Withanoside I, withanoside II, withanoside III, withanoside IV, withanoside V, withanoside VI, withanoside VII, withaferin A, physagulin D, coagulin Q Withasilolide A, withasilolide B, withasilolide C, withasilolide D, withasilolide E, withasilolide F Withanolide E, withanolide F, withanolide G, withanolide H, withanolide I, withanolide J, withanolide K, withanolide L, withanolide M Withanolide Q, withanolide R Withanolide E, withanolide F, withanolide S, withanolide P Withanolide T, withanolide U Glucosomniferanolide
Stem bark	Withasomnilide, withasomniferanolide, somniferanolide, somniferawithanolide, somniwithanolide Withanolide C, 4-deoxyphysalolactone (20R, 22R)-14 α , 20 α F-dihydroxy-1-oxowitha-2, 5, 16, 24-tetraenolide Withaferin A
Leaves	24,25-Dihydrowithanolide A, withanolide A, withanone, withaferin A, 27-hydroxy withanone, and 17-hydroxy withaferin A, 27-deoxy-16-en-withaferin A, 2, 3-dihydro-3 β -hydroxywithanone, 2,3-dihydro withanone-3 β -O-sulfate
Fruits	24,25-Dihydrowithanolide VI, withanoside IV, withanoside V, withanoside VI, withanamide A, withanamide B, withanamide C, withanamide D, withanamide E, withanamide F, withanamide G, withanamide H, withanamide I

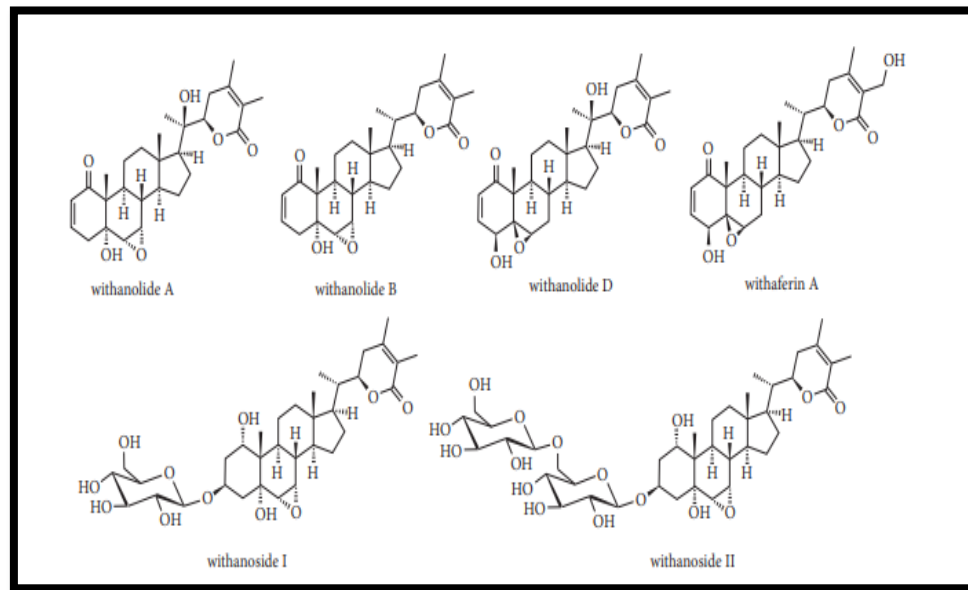


Figure 9: Structures chimiques de certains dérivés de withanolide isolés à partir de *Withania somnifera* (Sharifi-Rad, *et al.*, 2021)

8.2. Pharmacologie

L'ashwagandha est utilisé depuis longtemps par les systèmes médicaux traditionnels pour traiter diverses affections traditionnelles. Il a été utilisé pour une série de maladies telles que le diabète, l'émaciation, l'arthrite et les inflammations liées à l'arthrite rhumatoïde, les crises d'épilepsie, diarrhée, la dermatite et les piqûres d'insectes, ainsi que dans le traitement des nerfs. L'importance de l'ashwagandha dans les traitements médicaux a attiré l'attention d'un grand nombre de chercheurs. Médicinales a attiré l'attention d'un grand nombre de scientifiques (Poojari *et al.*, 2019).



Figure 10 : Effets pharmacologiques du *Withania somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.1. Propriétés anti-arthritique

Il a été démontré que la poudre d'ashwagandha aide à lutter contre la polyarthrite rhumatoïde aiguë et atténue les douleurs arthritiques. Cette propriété est attribuée au principe actif de la withaferine A (Mir, *et al.*, 2012).

8.2.2. Activité antistress et aphrodisiaque /Activité adaptogène

L'activité anti-stress associée aux glycosides (sitoindosides VII et VIII) présents dans cette plante a été rapportée par Bhattacharya. Les études menées par (ont confirmé l'utilité de l'ashwagandha en tant qu'anti-stress) ont été réalisées par Bhattacharya de l'ashwagandha comme adaptogène antistress.

L'ashwagandha est également utilisé comme tonique dans le traitement de la spermatopathie, de l'impuissance et de l'épuisement des spermatozoïdes, et les hommes qui ont utilisé cette plante ont bénéficié d'une plus grande vigueur. Les concentrations plus élevées d'éléments inorganiques tels que Fe, Mg, K et Ni dans les racines de cette plante jouent un rôle important dans l'activité diurétique et aphrodisiaque de la plante. La décoction de la racine bouillie avec du lait et du ghee est recommandée pour soigner la stérilité des femmes (Mir *et al.*, 2012).

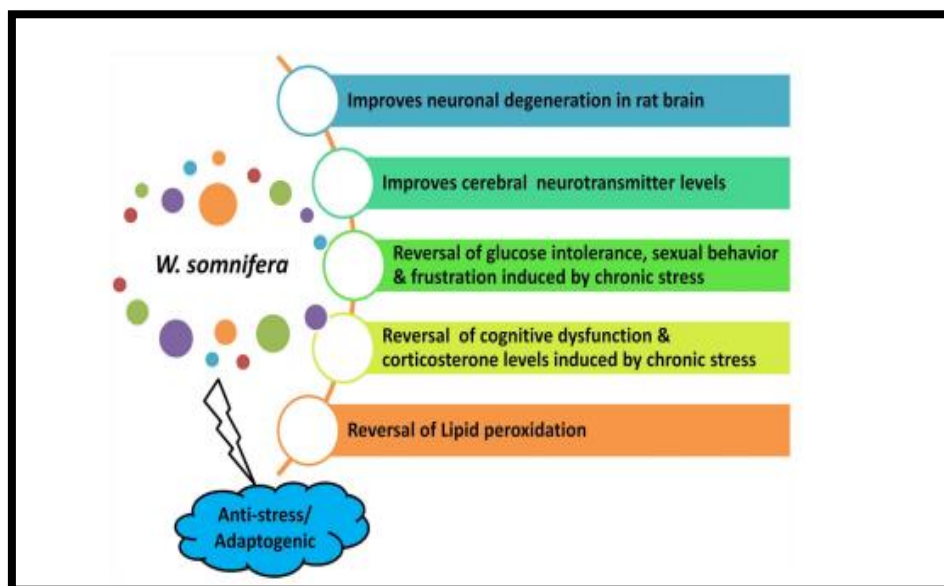


Figure 11 : Activité anti-stress et adaptogène de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.3. Activité musculotrope

Les alcaloïdes totaux de l'Aswagandha ont montré des effets relaxants et antispasmodiques contre plusieurs spasmogènes sur les muscles intestinaux, utérins, bronchiques, trachéaux et vasculaires sanguins, les muscles intestinaux, utérins, bronchiques,

trachéaux et les muscles vasculaires sanguins. Le modèle d'activité L'activité des alcaloïdes sur les muscles lisses était similaire à celle de la papavérine, ce qui suggère l'existence d'un lien avec la papavérine. de la papavérine, ce qui suggère une action musculotrope directe (Uddin *et al.*, 2012).

8.2.4. Activité anti-anxiété

Plusieurs études humaines contrôlées ont montré qu'il peut réduire les symptômes chez les personnes souffrant de troubles anxieux. Une étude expérimentale de 6 semaines a révélé que 88 % des personnes ayant pris de l'ashwagandha ont vu leur anxiété diminuer, contre 50 % ayant pris un placebo. Des recherches menées au département de pharmacologie du centre des sciences de la santé de l'université du Texas ont indiqué que les extraits d'ashwagandha produisent une activité de type GABA, ce qui pourrait expliquer les effets anti-anxiété de la plante. Cela produit un effet calmant. Une activité neuronale excessive peut conduire à l'agitation et à l'insomnie, mais le GABA inhibe le nombre de cellules nerveuses qui s'enflamment dans le cerveau et contribue à induire le sommeil, à améliorer l'humeur et à réduire l'anxiété (Jana & Madhu Charan, 2018).

8.2.5. Activité anti-microbienne

Les propriétés antibactériennes de cette plante médicinale aux multiples vertus ont été rapportées pour la première fois par Kurup (1956) contre *Salmonella aurens*. Au cours de la dernière décennie, des activités antimicrobiennes ont été rapportées contre une série de bactéries et de champignons, attribuées au withanolide. Cependant, la littérature existante montre que cette plante devrait être étudiée de manière plus approfondie afin d'explorer son potentiel dans le traitement d'autres maladies infectieuses (Mir, *et al.*, 2012).

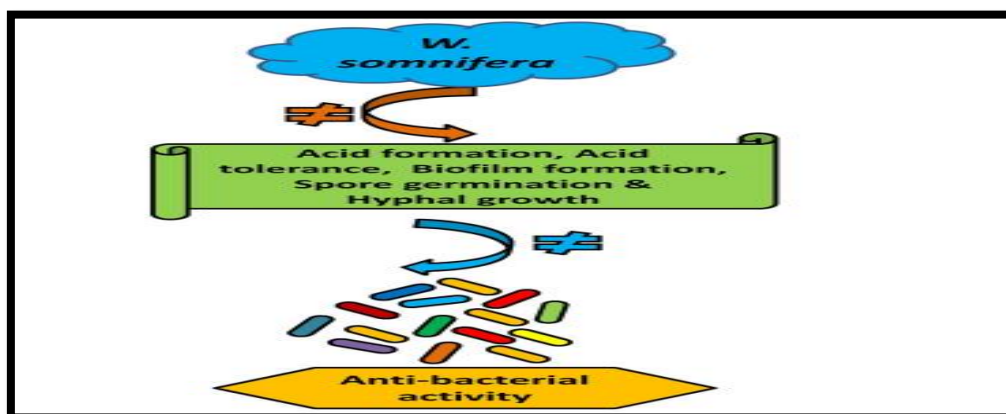


Figure 12: Activité antimicrobienne de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.6. Propriétés immunomodulatrice

W. somnifera agit comme un immunomodulateur dans les médecines indigènes, et ses composés phytochimiques, tels que la withaferine A, le 3-b-hydroxy-2,3-dihydrowithanolide F, les glycowithanolides et les sitoindosides IX et X, ont des propriétés immunomodulatrices avérées. Ces activités sont similaires à celles de certains médicaments immunosuppresseurs tels que le cyclophosphamide, l'azathioprine et la prednisolone. Par exemple, la prolifération des cellules de la rate est inhibée par les withanolides. Les macrophages murins et la phagocytose sont activés par les glycosides de withanolide, qui augmentent également l'activité enzymatique lysosomale sécrétée par les macrophages. *W. somnifera* aide à augmenter la concentration d'hémoglobine, les globules blancs et rouges, les plaquettes et le poids corporel, et réduit la leucopénie induite par le cyclophosphamide (CTX) ou des doses sublétales de rayons gamma. En outre, il contribue à ralentir les réactions d'hypersensibilité. Il augmente l'effet cytotoxique de l'oxyde nitrique synthase des macrophages, qui agit contre les micro-organismes et les cellules tumorales (**Gaurav, et al., 2023**).

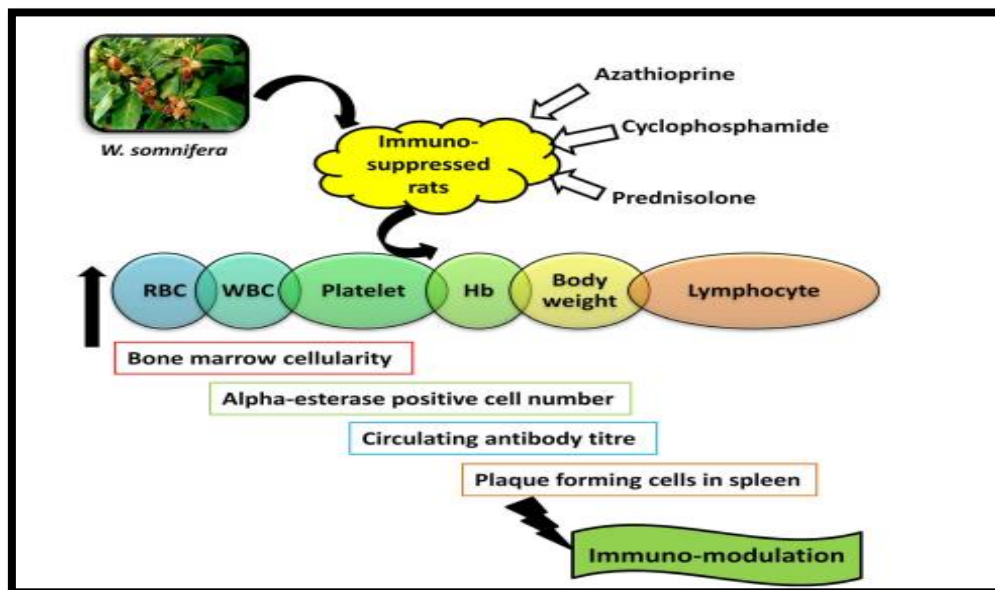


Figure 13: Effet immunomodulateur de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021) .

8.2.7. Propriétés antioxydants

Le cerveau et le système nerveux sont relativement plus sensibles aux dommages causés par les radicaux libres que d'autres tissus. car ils sont riches en lipides et en fer, deux éléments connus pour favoriser la génération d'espèces réactives de l'oxygène. Les dommages

causés par les radicaux libres aux tissus nerveux peuvent être responsables de la perte de neurones en cas d'ischémie cérébrale et peuvent être impliqués dans le vieillissement et la neurodégénérescence. vieillissement et les maladies neurodégénératives, telles que l'épilepsie, la schizophrénie, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies.

Les principes actifs de *W. somnifera*, les sitoindosides VII-X et la withaferine A (glycowithanolides), augmenteraient les niveaux de superoxyde dismutase (SOD), de catalase (CAT) et de glutathion peroxydase (GLP) endogènes, de glutathion peroxydase (GPX) et d'acide ascorbique, avec une diminution concomitante de la peroxydation des lipides. Une diminution de l'activité de ces enzymes est connue pour conduire à l'accumulation de radicaux libres oxydants et entraîner des effets dégénératifs (Bara *et al.*, 2016).

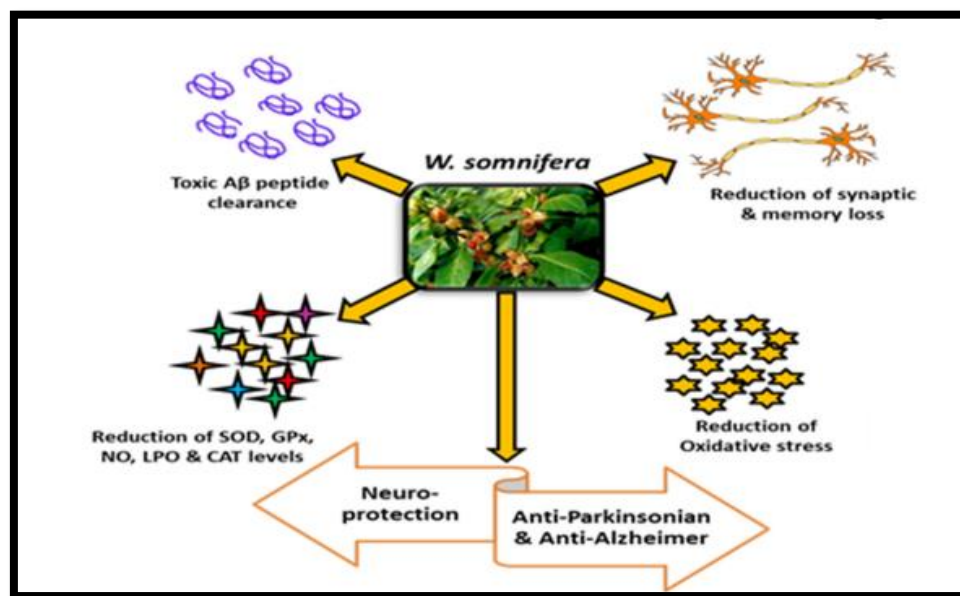


Figure 14: Activité neuroprotectrice, antiparkinsonienne et anti-Alzheimer de *W. somnifera*.
(Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.8. Activité anticancéreuse

Des études animales et en éprouvette ont montré que l'Ashwagandha favorise la mort des cellules tumorales et peut être efficace contre plusieurs types de cancer. Des études animales ont montré que l'Ashwagandha contribue à induire l'apoptose ou "mort cellulaire programmée" des cellules cancéreuses. Elle inhibe également la croissance de nouvelles cellules cancéreuses de plusieurs manières (Chourasiya & Mahobiya, 2022).

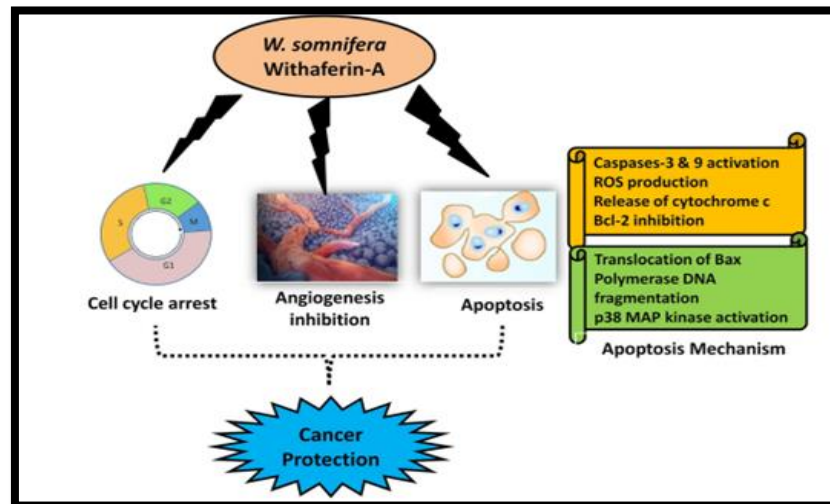


Figure 15: Activité anticancéreuse de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.9. Activité anti-âge

Les propriétés anti-âge de l'ashwagandha ont été testées dans le cadre d'un essai clinique en double aveugle. Un groupe de 101 hommes bonne santé, âgés de 50 à 59 ans, ont reçu la plante à raison de 3 grammes par jour pendant un an. Les sujets ont constaté une amélioration significative de l'hémoglobine, de la numération des globules rouges, de la mélanine des cheveux et de la stature assise. Le cholestérol sérique a diminué et le calcium des ongles a été préservé.

Le cholestérol sérique a diminué et le calcium des ongles a été préservé. 70 % des sujets de recherche ont signalé une amélioration de leurs performances sexuelles (Narinderpal, *et al.*, 2013).

8.2.10. Effet thyrotrope (hypothyroïdie)

Des recherches ont révélé que *W. somnifera* a des effets thyrotropes. Ses composants diminuent l'activité thyroïdienne et la peroxydation des lipides dans l'homogénat de foie et affectent les systèmes antioxydants cellulaires en augmentant l'activité de la catalase alors que les niveaux de T3 restent constants. En outre, le volume d'urine et le sodium sont augmentés, et le cholestérol et les triglycérides sériques sont réduits (Gaurav, *et al.*, 2023).

8.2.11. Activité anti-COVID-19

Le SARS-CoV-2, un virus à ARN monocaténaire à sens positif, est à l'origine du COVID-19 (nouvelle maladie infectieuse à coronavirus). Le génome du virus code pour quatre protéines clés : une nucléocapside, une enveloppe, une pointe et une membrane. Le

Withanoside V, une protéase ou une protéase de type 3-chymotrypsine produite par *W. somnifera* inhibe le virus primaire et retarde sa maturation (**Gaurav, et al., 2023**).

8.2.12. Activité cardioprotectrice

L'extrait de *Withania somnifera* a été évalué sur les systèmes cardiovasculaire et respiratoire chez des chiens et des grenouilles. Les alcaloïdes ont eu une action hypotensive, bradycardique et stimulante respiratoire prolongée chez les chiens. respiratoire chez le chien. L'action cardio-inhibitrice chez les chiens semble être due à un blocage des ganglions et à des actions cardiodépresseives directes. Dans une autre étude, le dysfonctionnement du ventricule gauche Dans une autre étude, un dysfonctionnement du ventricule gauche a été observé sous la forme d'une diminution de la fréquence cardiaque, d'une variation du pic de pression positive et négative du ventricule gauche et d'une élévation de la pression de fin de diastole du ventricule gauche dans le groupe de contrôle. Le *Withania somnifera* a montré une forte action cardioprotectrice dans le modèle expérimental de myonécrose induite par l'isoprénaline chez le rat (**Chourasiya & Mahobiya, 2022**).

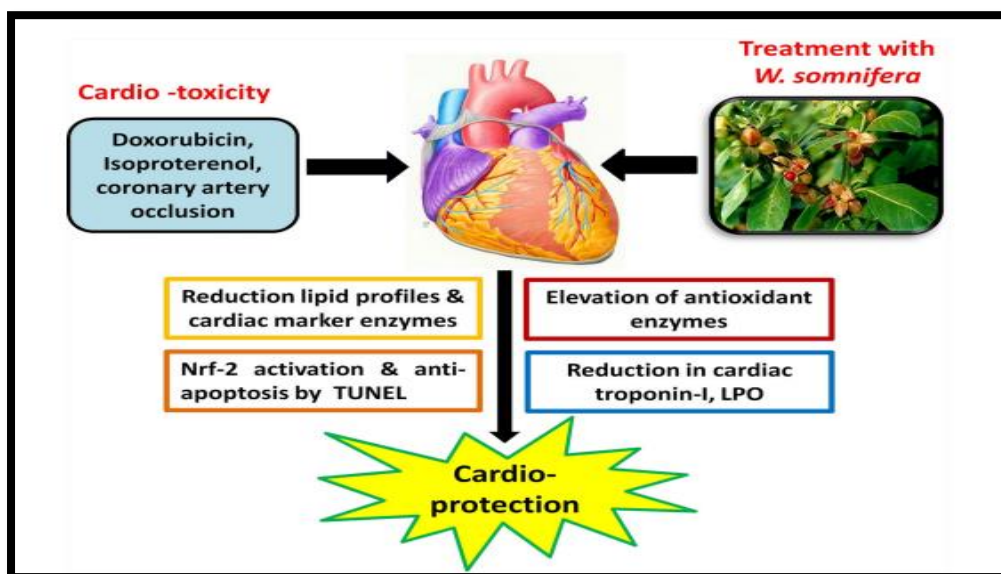


Figure 16 : Activité cardio-protectrice de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.13. Activité anti-inflammatoire

Il a été démontré que l'ashwagandha augmente l'activité des cellules tueuses naturelles et diminue les marqueurs de l'inflammation. Plusieurs études animales ont montré que l'ashwagandha contribue à réduire l'inflammation. l'inflammation. Une étude expérimentale sur l'homme a montré que l'ashwagandha augmente l'activité des cellules tueuses naturelles, qui sont des cellules immunitaires qui luttent contre les infections. L'ashwagandha contribue également à réduire marqueurs de l'inflammation, tels que la protéine C-réactive (CRP). La

withaférine A a montré de puissantes activités antiarthritiques et anti-inflammatoires. L'activité anti-inflammatoire a été attribuée aux des stéroïdes biologiquement actifs dont la Withaferin A est un composant majeur (Garje, *et al.*,2019).

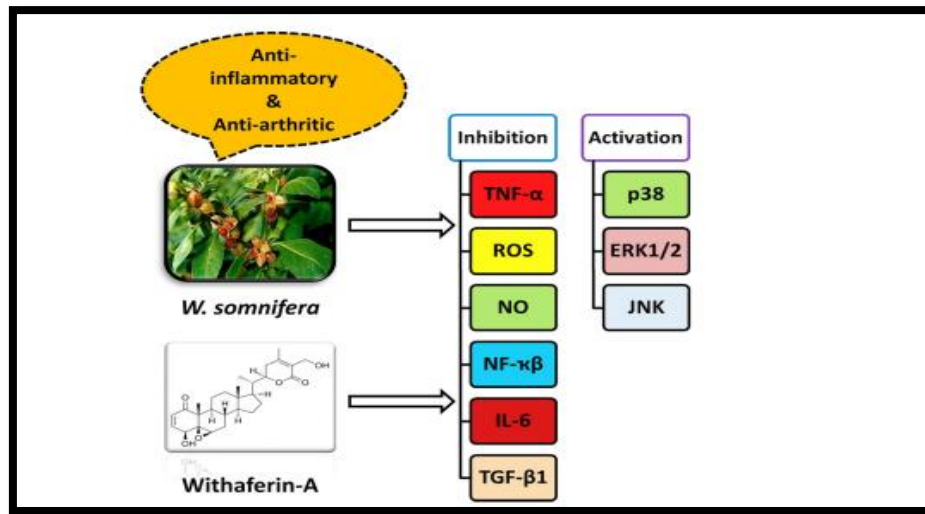


Figure 17: Activité anti-inflammatoire et anti-arthritique de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

8.2.14. Activité anti-diabétique

W. somnifera agit comme un antidiabétique, réduisant la glycémie et le taux de cholestérol. Il diminue la streptozocine, qui est particulièrement toxique pour les cellules bêta productrices d'insuline du pancréas et induit une hyperglycémie. pancréas productrices d'insuline et induit une hyperglycémie. L'effet antidiabétique de la plante peut provenir de l'activité de piégeage des radicaux libres des îlots pancréatiques. L'activité hyperglycémique de la streptozocine résulte de la réduction de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) des cellules des îlots pancréatiques, ce qui conduit à l'accumulation d'oxydes dégénératifs. l'accumulation de radicaux libres oxydants dégénératifs dans les cellules bêta des îlots de Langerhans (Gaurav, *et al.*, 2023).

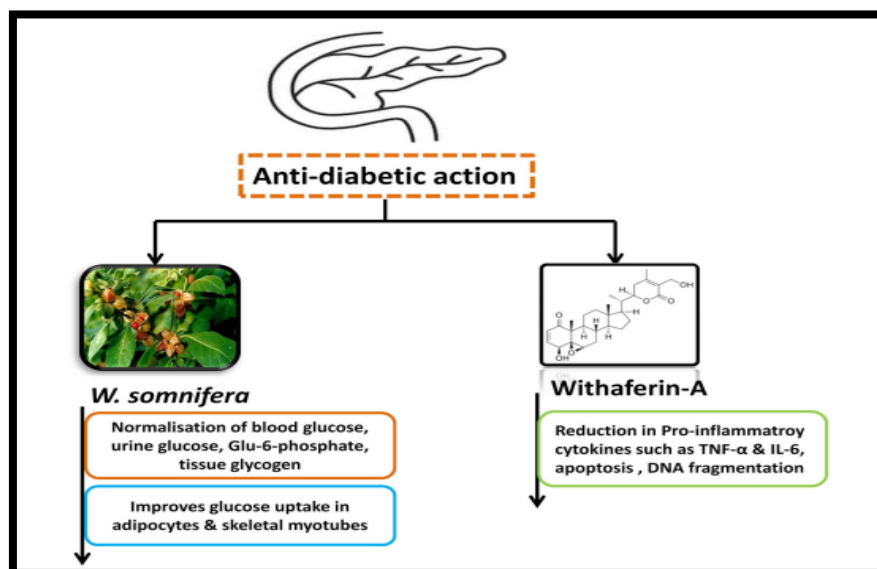


Figure 18: Activité antidiabétique de *W. somnifera* (Mandlik & Namdeo, 2021).

9. Toxicité de l'*Aswaghandha*

L'étude de la toxicité orale aiguë et subaiguë de l'extrait hydro-alcoolique de racine de *W. somnifera* à une dose de 2000 mg/kg/poids corporel ont été effectuées sur des rats Wistar, après l'administration de l'extrait les animaux ont été observés pendant 14 jours dans le cas de la toxicité aiguë, tandis que dans le cas de la toxicité subaiguë l'extrait a été administré à des doses de 500, 1000 et 2000 mg/kg et observé pendant 28 jours et à la fin de l'étude l'auteur a conclu qu'il n'y avait pas de changements significatifs observés dans le poids du corps et des organes et les paramètres hématologiques chez les rats et même l'extrait a été trouvé à l'abri de la mort. L'auteur a également indiqué qu'une dose journalière d'extrait de maïs était sans danger pour les rats et que l'extrait de maïs était sans danger pour les rats. L'auteur a également indiqué qu'une dose quotidienne de 100 mg/kg d'extrait de *W. somnifera* par injection intra péritonéale chez des souris albinos suisses n'entraîne pas la mort dans les 24 heures suivant l'injection, mais une légère augmentation de la dose entraîne la mort avec une DL₅₀ de 1,5 kg. de la dose provoque la mort avec une DL₅₀ de 1260 mg / kg de poids corporel dans l'étude de toxicité aiguë, L'étude ci-dessus a permis de conclure que l'extrait de *W. somnifera* est relativement plus sûr dans tous les groupes d'âge pour le traitement de diverses maladies en dessous de la DL₅₀ pour le traitement de diverses maladies avec une DL₅₀ inférieure à 1260mg/kg (Memon, 2022).

Partie 2: Etude expérimentale



Chapitre 1: Matériel et méthode



1. Enquête ethnobotanique

L'enquête par questionnaire individuel a été réalisée auprès d'un échantillon de 38 individus résidant dans la wilaya de Tébessa, durant une période allant du mois de février au mois de mars 2024. Il est à noter que 1% des participants sont des herboristes. Le questionnaire a été distribué aux participants via Google Forms.

L'objectif de cette enquête est de collecter le maximum d'information sur la popularité de *Withania somnifera* chez la population autochtone. Le questionnaire englobe deux sections :

- Section 1 : des questions sur les informations personnelles du participant ;
- Section 2: des questions sur la plante (utilisation, mode de préparation, quantité quotidienne, efficacité de la plante et ses effets indésirables.

Les données recueillies ont été automatiquement traitées par Google Forms et présentées sous différentes représentations graphiques.

2. Description de la zone de la récolte et lieu de stage

Dans le cadre de l'évaluation et de l'étude de la bioactivité potentielle de l'extrait racine *Withania somnifera* (L'Ashwagandha) récolté durant le mois de Mars 2024 dans un champ de la région Bellila de la municipalité d'El Magrane est situé au centre et au nord de la wilaya d'El Oued Souf, en Algérie, nous avons effectué des analyses phytochimiques au niveau du laboratoire de biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Tébessa, Algérie.

3. Matériels







3.1. Matériels non biologique

3.1.1. Verreries et autres matériels :

Boite de pétri, tubes a essais, entenoirs, pipettes gradués, papier filtre, becher gradué,

3.1.2. Appareils et réactifs chimique

3.1.2.1. Appareillage

		
Évaporateur rotatif	Bain Marie	Agitateur magnétique
		
Étuve	Balance de précision	spectrophotomètre

3.1.2.2. Réactifs chimiques

Le tableau 3 représente les réactifs chimiques utilisés dans notre travail.

Tableau 3: Réactifs chimique utilisés .

Produit	Formule brute
Méthanol	CH ₃ OH
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄
Acide chlorhydrique	HCl
Chloroforme	CHCl ₃
Ammoniaque	NH ₄ OH
Propanol	C ₃ H ₈ O
acétate de plomb	Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂
Hydroxyde de potassium	KOH

Éthanol	C ₂ H ₆ O
iodure de potassium	KI
chlorure mercurique	HgCl ₂
Chlorure ferrique	FeCl ₃
trichlorure d'aluminium	AlCl ₃
liqueur de Fehling	/
Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃

3.2. Matériel biologique

3.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est les racines de *Withania somnifera*, ils ont été récoltés le mois de mars 2024.



Figure 19: Les racines de L'Ashwagandha (Mars 2024) .

4. Méthode d'analyse

4.1. Préparation et conservation du matériel végétal (Broyage)

Après récupération de la plante, les racines du *W. somnifera* ont été bien nettoyées Le séchage a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante (24°C), sur du papier. Les racines séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre grossière, par la suite la poudre a été conservée dans un flacon en verre à l'abri de la lumière.

4.2.Extraction par macération

4.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique est préparés par macération de 50 g de la poudre végétale dans 500 ml de méthanol brut pendant 24 heures à température ambiante. L'extrait est récupéré par filtration sur papier filtre Wattman. Le filtrat a été répété 3 fois. Après filtration du mélange,

l'extrait a été évaporé à sec sous pression réduite à et à 48°C grâce à un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait sec, ensuite conservée dans une flacon.

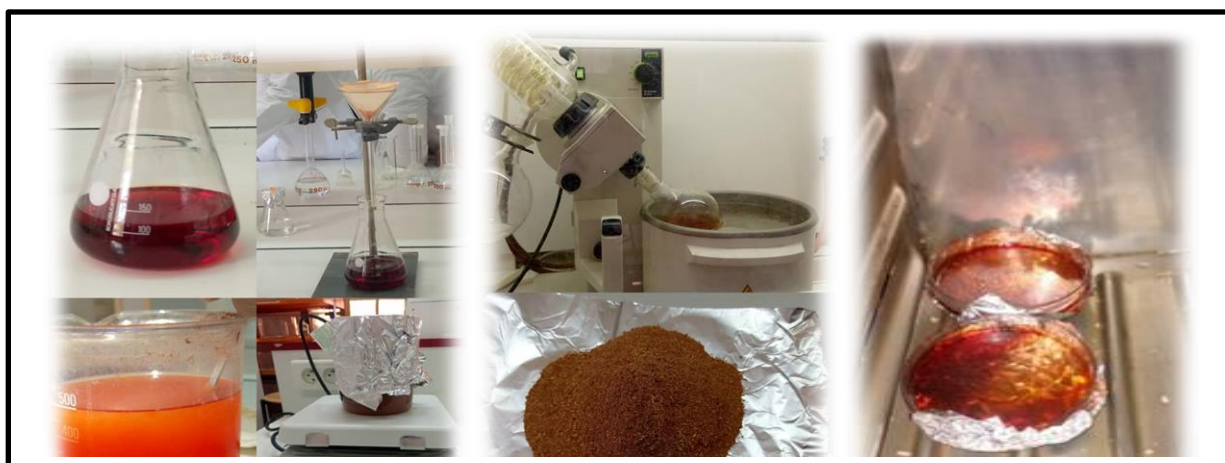


Figure 20: Les étapes de préparation de l'extrait méthanolique.

Tableau 4: Aspect et couleur de l'extrait méthanolique des racines de *Withania somnifera*

Extrait	Aspect	Couleur
Méthanolique	Collant et pâteux	Rouge Ajuri



Figure 21: Extrait méthanolique sec du *Withania somnifera* (Ashwagandha).

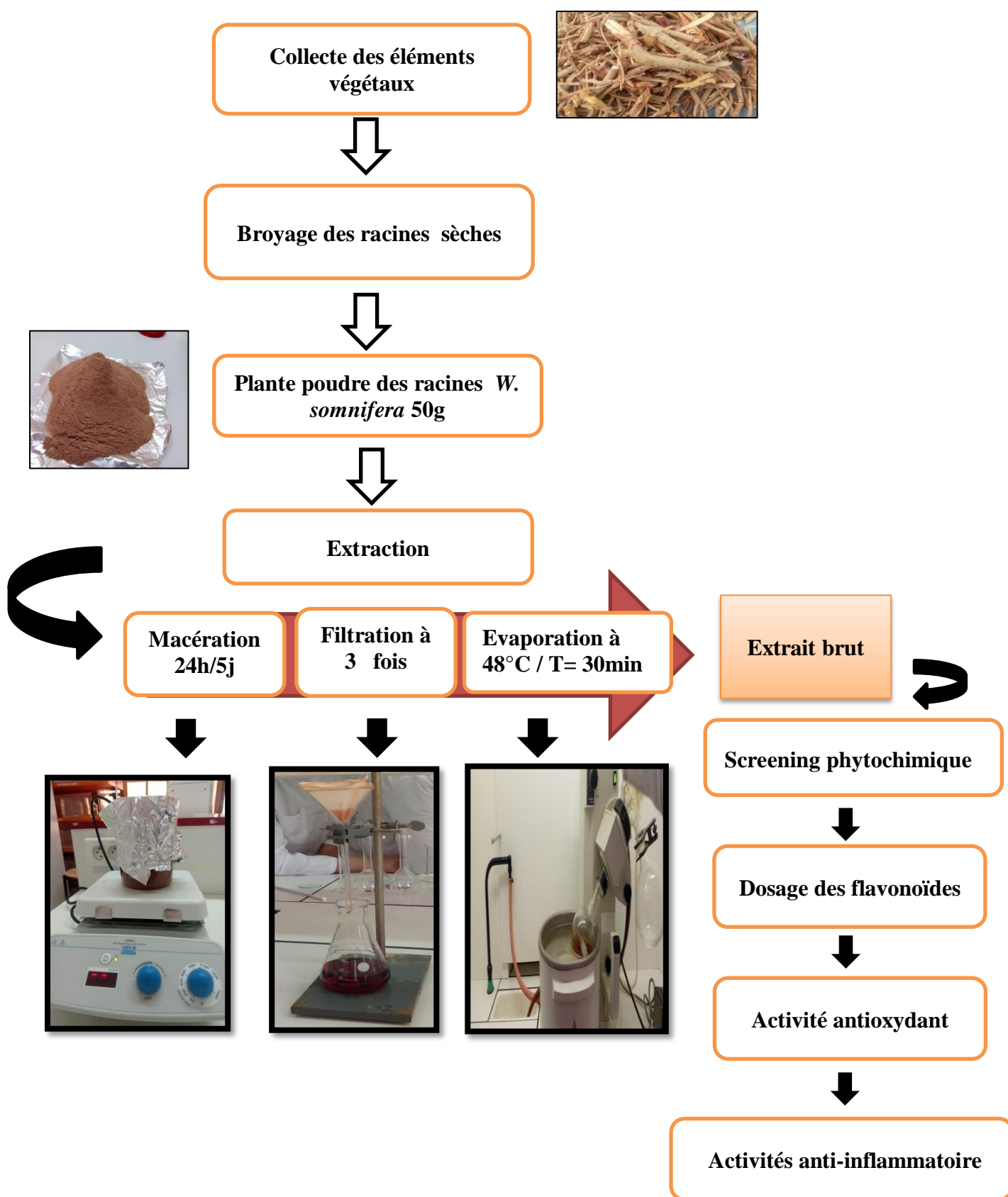


Figure 22: Protocole de l'étude expérimentale.

5. Analyses de l' extrait méthanolique de *W. somnifera*

5.1. Analyse qualitative

5.1.1. Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées

Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tannins totaux, les tannins galliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones, les coumarines et les mucilages. Le tableau montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires (Tableau 5) .

Tableau 5 : Screening phytochimique (Harbone, 1998 ; Raaman *et al*, 2006).

Métabolites secondaires	Méthodes	Résultat
Glucosides	On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) Concentré (96%) (Annexe 01).	l'apparition d'une couleur rouge-bleu
Saponosides	Mélanger 2ml d'infusé avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb blanc à 1% (Annexe 02,03,04).	Formation d'une Précipité blanc
Saponines	50 ml d'eau distillée et de 5g de poudre sont porté à ébullition modérée pendant 15 min. Après refroidissement, la solution est filtrée et ajustée à 50 ml avec de l'eau. décocté Dans un tube à essai (de 160 X 16 mm), 10 ml du précédemment préparé est	La formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable et persistante pendant 15min, indique la présence des saponines

	introduit et une agitation dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde est pratiquée. On le laisse reposer pendant 15 min (voir Annexe 05).	
anthocyanes	On mélange 5ml d'infusé avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH ₄ OH) concentré (30%) (Annexe 06).	Coloration rouge
coumarines	Mettre 2g de poudre dans 20ml d'éthanol absolu. Bouillir pendant (Annexe 07).	Couleur rouge
Mucilage	On introduit 1ml d'infusé dans un tube à essai, puis on ajoute 5 ml d'alcool absolu (Annexe 08).	Précipité floconneux
Quinones	Humecter 2g de poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique+ 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2) (Annexe 09).	Coloration rouge
Leuco- anthocyanes	2g de poudre+20ml de propanol/Coloration rouge acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain marie (Annexe 10).	Coloration rouge
Alcaloïdes	Les alcaloïdes sont également mis en évidence par le réactif de Mayer (10 g de KI et 2,70 g de HgCl ₂ dissous dans 20 ml	Formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune

	d'eau distillé. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif à 2 ml de la solution d'extrait (Dahou et al., 2003).	
Tanin	A 1 ml d'extrait, 0,25 ml de FeCl ₃ (1%) est ajouté (Karumi 2004).	coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins gallique).
Phénol	2ml de l'éthanol est ajouté à 2 ml de l'extrait, L'ajout de quelques gouttes de FeCl ₃ (Iqbal Hussain et al., 2011).	l'apparition d'une coloration qui indique la présence des phénols
Flavonoïdes glycosides	1ml d'hydroxyde de potassium KOH à 1% est ajouté à 2ml de l'extrait dilué dans le méthanol (Iqbal Hussain et al., 2011).	L'apparition d'une coloration jaune
Sucres réducteurs	5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling (Harbone, 1998; Raaman et al, 2006).	La formation d'un précipite rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive.
Tanin vrais	Un aliquote d'extrait repris dans 2 ml d'eau distillée, on ajoute quelques gouttes d'HCL concentré toute est chauffé au bain marie bouillant (Bekro., 2007).	la formation d'un précipite rouge indique un test positif

6. Caractérisation quantitative de l'extrait

6.1. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium

La détermination de la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (**Djeridane et al., 2006 ; Bahorum, 1997**).

1ml d'extrait a été ajouté à 1ml d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) . Après 10min d'incubation à 37°C et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430nm. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage $y= ax+b$ établie avec la Rutine à différentes concentrations (0- 100g/ml, chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait servira à la quantification des flavonoïdes (Figure N°33).La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait (mg ER/gE).

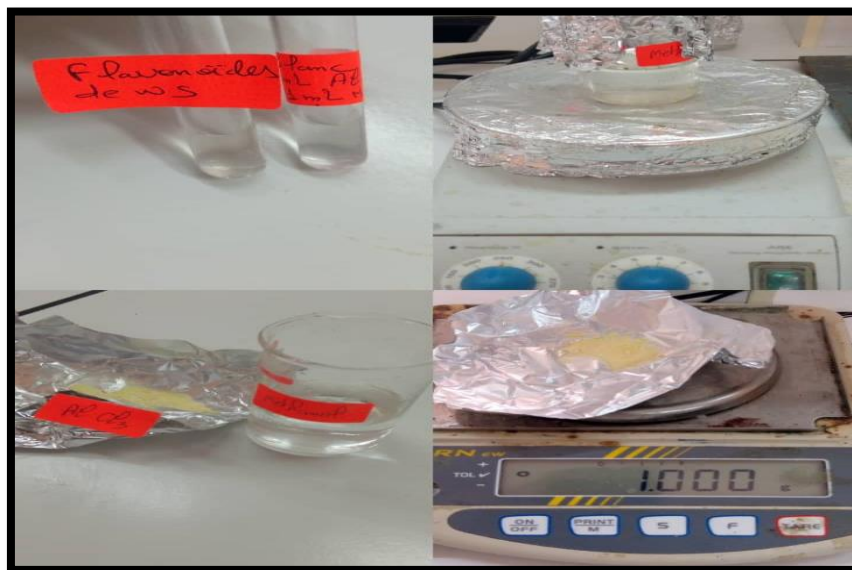


Figure 23: Préparation du AlCl_3 et test flavonoïdes totaux Après 10min d'incubation à 37°C

7. Les activités biologiques *in vitro*

7.1. Evaluation de l'Activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines est la conséquence de la réaction inflammatoire (**Barros et al., 2010**). Le modèle de la dénaturation de l'albumine a été choisi pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires *in vitro* de l'extrait méthanolique de l'Ashwagandha selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines .

Le principe de cette technique est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher la dénaturation faisant suite à un traitement thermique de l'albumine bovine.

Nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) selon (**Karthik et al., 2013**).

Préparations des solutions :

- **Préparation du Tris-HCl 0.05 M pH : 6,6** 1g est dissous dans 200 ml de l'eau distillée . Le pH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCL.

- **Préparation des blancs**

a- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans le quel 0,1ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-HCL (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

b- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

- **Préparation de la solution BSA 0,2%** 0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-HCL - Préparation des extraits Préparer une solution mère de 10 mg/ml de chaque extrait

- **Préparation du standard** : Préparer une solution mère de 0,5 mg/ml de Diclofénac sodique

Mode opératoire

1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard a été ajouté à 1 ml de solution de BSA 0.2 % préparé dans le Tris HCL pH : 6,6 Le mélange est ensuite incubé à 37 C° pendant 15 min. Puis dans un bain marie à 72 °C pendant 5 min. À la fin de l'incubation, le mélange est refroidi rapidement, puis son absorbance est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve. Dans ce test, Diclofénac sodique a été utilisée comme anti-inflammatoire de référence.

❖ Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de protéine été calculée comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - (A \text{ solution d'essai} - A \text{ contrôle produit} / A \text{ solution contrôle})] \times 100$$

7.2. Evaluation de l'activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *W. somnifera* est testée selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

7.2.1. Activité antiradicalaire au DPPH

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inverse ment

proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Un volume de 100µl de l'extrait méthanolique de notre plante d'étude (avec dilution convenable) est incubé (30min) avec 2ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM). Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées .

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus avec l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{A Blanc} - \text{A Extrait}) / \text{A Blanc}] \times 100$$

A Blanc est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A Extrait est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC₅₀); la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC₅₀ est exprimée en µg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

8. Evaluation statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2013. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne. Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]

Chapitre 02: Résultats et discussions



1.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

1.1.1. Résultats des informations sociodémographiques

Les résultats obtenus montrent la participation prédominante des femmes en comparaison à celle des hommes avec un pourcentage de 84,2 % contre 18,4 %. Par ailleurs, 89.5% des participants sont âgées entre 18 et 35 ans, suivi des tranches d'âge de [18] et de [35-55] avec 7.9% et 5.3% respectivement. Sur leur situation familiale, 89.5% des questionnés ont déclaré être célibataires contre 13.2% sont mariées. Aussi, la majorité ont un niveau d'étude universitaire (96.8%). Concernant l'activité professionnelle, on révèle des personnes sans travail (60.50%), des salariées (26.3%), ceux qui ont une activité privée (13.2%). On note que 94.7% des participants à l'enquête sont en bonne santé, pendant que 5.3% ont maladies chroniques (Figure 24).

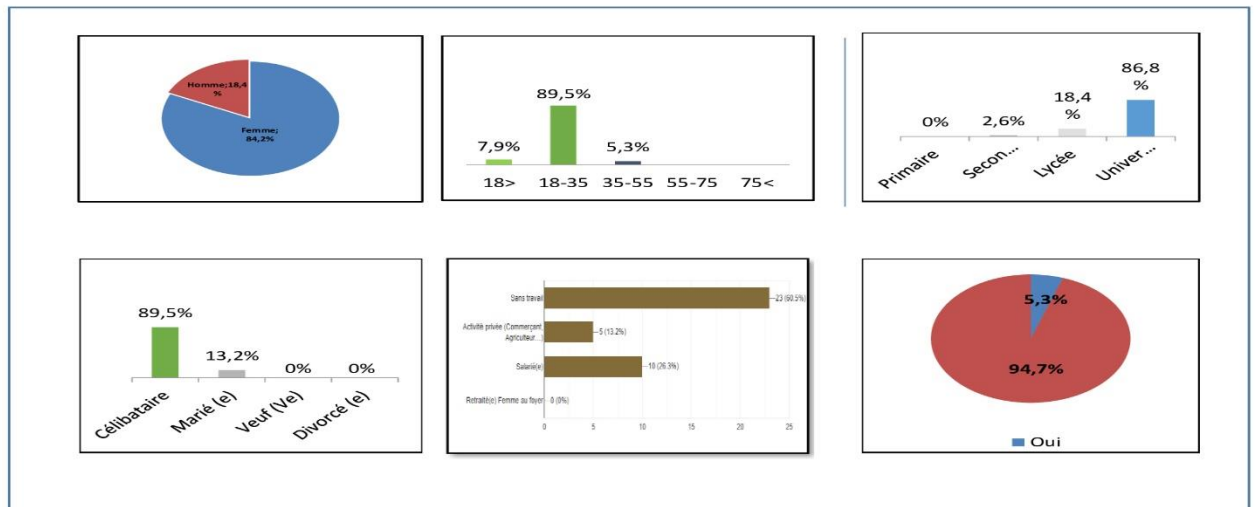


Figure 24 : Résultats socio-démographique

1.1.2. Consommation et mode reconnaissance de l'Ashwagandha

En réponse à la question "si notre entourage l'utilise", il est évident qu'une minorité de personnes reconnaissent le *W. somnifera* ce qui représente 52.6 % mais seulement 10% qui ont la consommé (Figure 25).

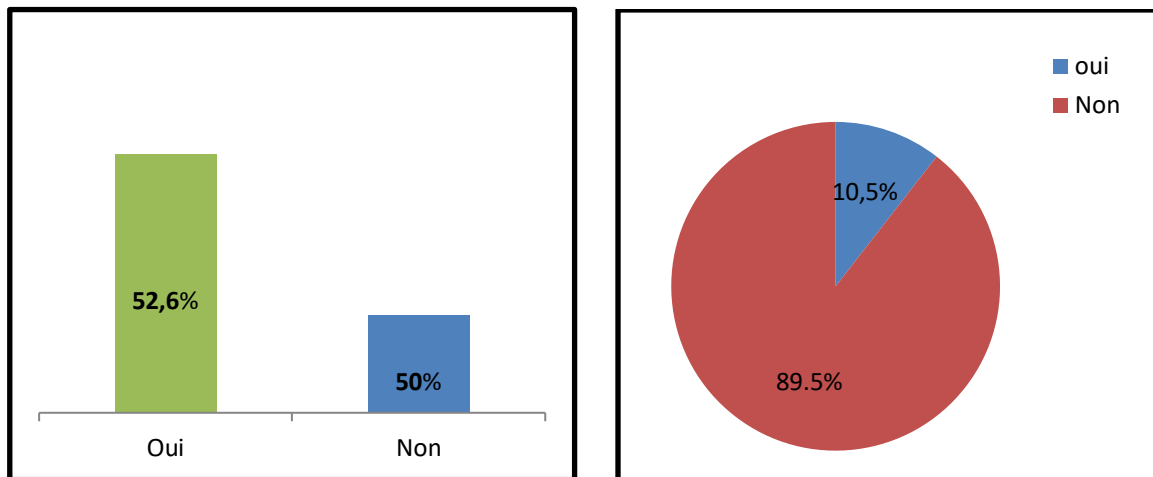


Figure 25: Résultats sur la reconnaissance et la consommation de l'Ashwagandha par la population

1.1.3. Type d'Utilisation de *W. somnifera*

Les résultats obtenus montrent que la majorité des personnes interrogées sur l'Ashwagandha utilise la plante pour des fins thérapeutiques (70%) et la plus part ne souffrent pas de maladies chroniques avec un pourcentage maximum de 94,7% par rapport aux personnes souffrant des maladies chroniques avec un pourcentage plus faible (5,3%) (Figure 26).

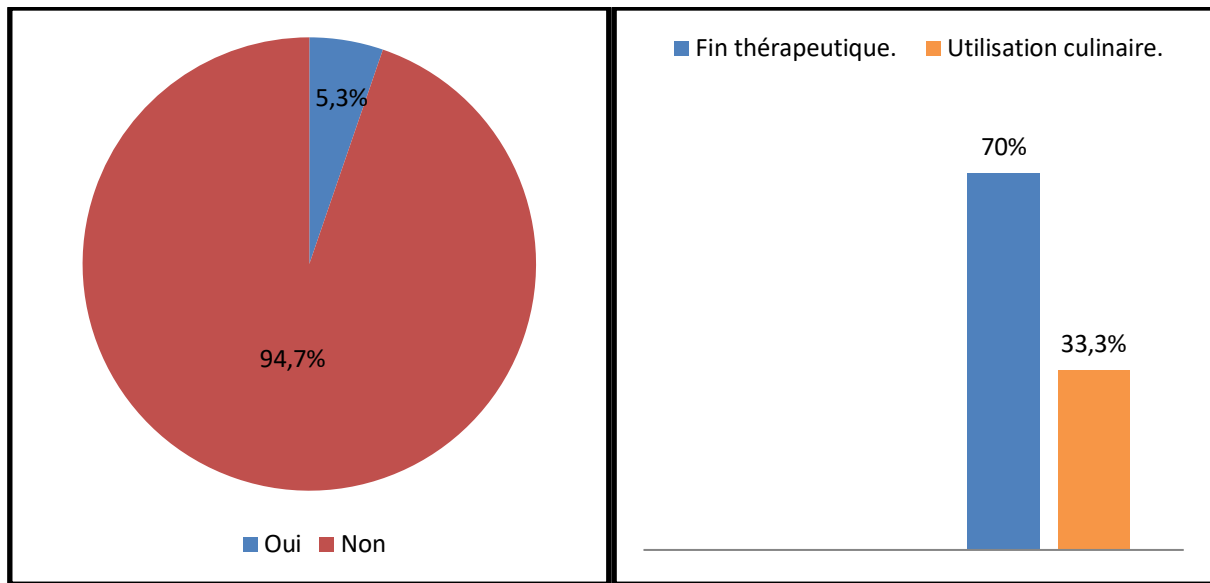


Figure 26: Résultats sur les types utilisation et maladie chronique.

1.1.4 . Manière de consommation et dose journalière de l'Ashwagandha

Les résultats de l'étude ont montré qu'un grand pourcentage de personnes consomment de l'Ashwagandha à raison d'une dose par jour (88,5 %), suivi par des pourcentages similaires de personnes consommant la plante à raison de deux ou trois doses par jour (15,4 %), ainsi les habitants de la région de Tébessa utilisent diverses méthodes thérapeutiques, et la méthode la plus largement appliquée est la décoction (tisane) avec un pourcentage de (76,2 %) et en Poudre avec un faible pourcentage (33,3 %). (Figure 27)

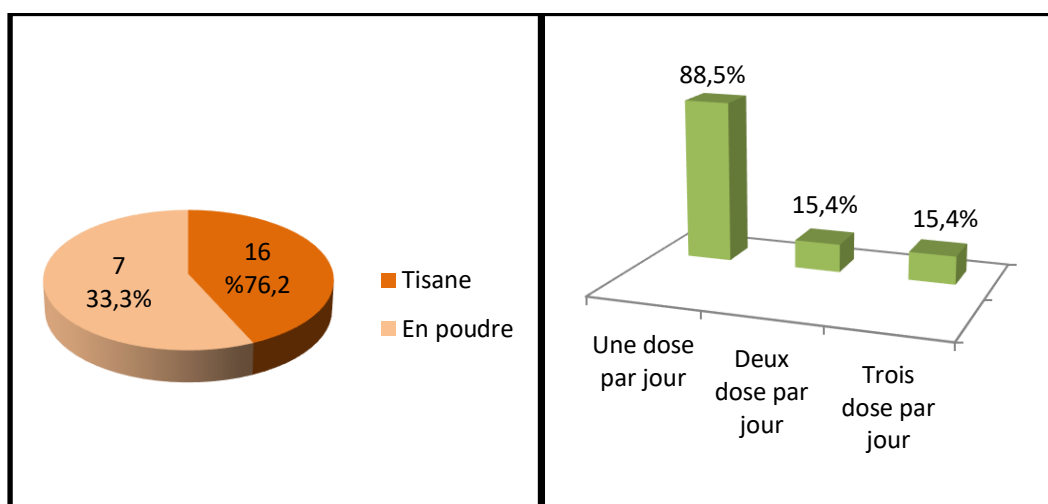


Figure 27 : Manière de consommation et dose journalière de l'Ashwagandha.

L'étude ethnobotanique dans la région de Tébessa révèle que les femmes sont plus susceptibles d'utiliser l'*Ashwagandha* que les hommes, avec un pourcentage de 84,2 % contre 18,4 %. La majorité des participants sont âgés de 18 à 35 ans et 89,5 % sont des célibataires. La majorité d'entre eux ont un diplôme universitaire et ont une bonne santé, seuls 5,3 % d'entre eux souffrent de maladies chroniques. La majorité des utilisateurs d'*Ashwagandha* l'utilisent à des fins thérapeutiques, avec un maximum de 94,7% ne souffrant pas de maladies chroniques. La méthode thérapeutique la plus utilisée est l'extraction du thé (tisane). On peut pas discuter notre travail au travaux récent à cause de l'absence des études ethnobotanique sur l'*Ashwagandha* dans l'Algérie.

1.2. Calcule du Rendement de l'extrait

L'extrait méthanolique obtenu après macération dans le méthanol des racines de *W. somnifera* est d'aspect Collant et pâteux, de couleur Rouge Ajuri à été pesé pour déterminer son rendement, Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de plante et présenter dans le tableau 6.

Tableau 6 : Rendement de l'extrait méthanolique de *l'Ashwagandha*.

Extrait	Extrait méthanolique
Rendement (%)	3,771 %

Le rendement méthanolique obtenu égale à 3,77% pour 50 g des racines *d'Ashwagandha* est plus faible par rapport à d'autres études. Le rendement de l'extraction méthanolique de *l'Ashwagandha* peut varier en fonction des méthodes utilisées et selon une étude (**Dhama, et al., 2023**), les rendements d'extraction de *l'Ashwagandha* varient de 5,13% à 5,79%. Une étude récente a été rapporté des rendements allant jusqu'à 25,7 % pour les extraits *w.somnifera*, Deux techniques d'extraction traditionnelles (A : macération et B : Soxhlet) et deux techniques d'extraction modernes (C : extraction assistée par micro-ondes et D : extraction à l'eau sous-critique) ont été comparées en utilisant la matière première constituée de WS, de feuilles et de racines. Par rapport aux procédures traditionnelles (A=20,8 % et B= 25,7), les approches modernes ont des rendements d'extraction plus élevés (C= 30,2 % et D=65,6 %) et ont un contenu plus élevé (**Shinde, et al., 2023**).

L'impact des solvants sur le rendement d'extraction a été étudié dans diverses recherches, notamment celles de **Hayouni et al. (2007)** et **Ben El Hadj Ali et al. (2014)**. **Clara et al. (2010)** et **Khelifi et al. (2011)** qui ont démontré l'importance de la polarité du solvant, et les

variations des rendements des différents extraits peuvent être attribuées à cette polarité des composés distincts. Ainsi, l'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé, soit 54%, par rapport aux extraits organiques (éthérique et méthanolique).

1.3. Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions, sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le (tableau 08), Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires. Selon leur intensité les réactions qui se produisent sont classées de :

Réaction fortement positive: +++






Réaction moyennement positive: ++

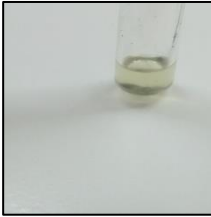
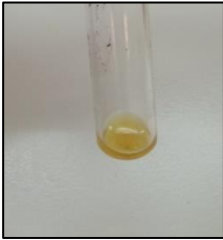
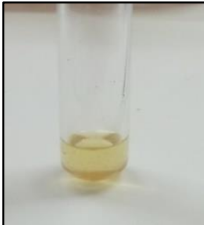
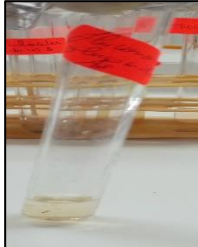


Réaction faiblement positive: +

Réaction négative: -

Tableau 7 : Résultats du screening phytochimique du *W.somnifera*

Métabolites secondaires	Réactions	Observation	Photographié des résultats
Glucosides	+	Coloration bleu	
Saponosides	+	Formation d'une Précipité blanc	
Saponines	+++	La formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable et persistante pendant 15min	

anthocyanes	+	Coloration rouge	
Coumarines	++	Coloration rouge	
Mucilage	+++	Précipité floconneux	
Quinones	-	Coloration rouge	
Leuco- anthocyanes	+++	Coloration rouge	

Alcaloïdes	++	formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune	
Tanin	-	coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins gallique)	
Phénols	+++	l'apparition d'une coloration	
flavonoïdes glycosides	++	L'apparition d'une coloration jaune	
Les sucres réducteurs	-	La formation d'un précipite rouge brique	
Tanins vrais	-	la formation d'un précipite rouge	

L'analyse préliminaire du criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de *W. somnifera* a révélé la présence de plusieurs métabolites dans la partie racine de notre plante, tels que les flavonoïdes, les composés phénoliques, les alcaloïdes, les saponines, les glucosides, les saponosides, les anthocyanes, les coumarines, la mucilage, les leucoanthocyanes terpénoïdes et les composés réducteurs.

Nos résultats sont en accord avec celle de (**Visweswari et al., 2013 ; Shahriar et al., 2012 ; Pandey et al 2023**) qui ont également trouvé les mêmes composés chimiques dans la racine de *W. somnifera*, ce qui corrobore pleinement les résultats du criblage obtenus.

1.4. Taux des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium. La teneur en flavonoïdes de notre extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de quercétine. D'après les résultats obtenus (**Tableau 8**), la plante étudiée présente une teneur élevée en flavonoïdes égale à 24.20 µg EQ/ g MS.

Tableau 8 : Teneurs en flavonoïde d'extrait méthanolique de l'*Ashwagandha*

Composant	Teneur en flavonoïdes (µg de quercétine /g d'extrait)
Extrait méthanolique de <i>W. somnifera</i>	24.20

L'objectif de l'étude quantitative de l'extrait méthanolique d'*Ashwagandha*, en utilisant des dosages aux spectrophotométries, était de déterminer le taux total de flavonoïdes.

Selon les résultats obtenus (**Tableau 8**), on observe une forte concentration de flavonoïdes dans les racines du *W. somnifera*, atteignant 24.20 µg EQ/ g MS.

Notre résultat (24.20 µg EQ/ g MS) sont faible par rapport à celles obtenue par (**Azhar, et al., 2020**) dont lequel ils ont obtenu un teneur de Flavonoïde totaux égale à 39.13 dans l'extrait méthanolique d'*Ashwagandha*, a différence entre les anciens résultats et les résultats actuels peut revenir à différents Facteurs :l'environnement, la période de récolte, la technique d'extraction, la méthode et le volume du solvant utilisé pour le dosage. La présence de flavonoïdes montre l'activité antioxydant de cette plante et sa concentration est grandement affectée par diversité biologique, génétique, variations environnementales et temporelles de différentes plantes (**Kumar et al., 2018**).

1.5. Activité antioxydant *in vitro*

1.5.1. Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistré dans la figure 35.

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou l'extrait méthanolique de l'Ashwagandha, à 250 µg/ml, le pouvoir d'inhibition de l'extrait de *W. somnifera* est 72% contre 97% de l'acide ascorbique.

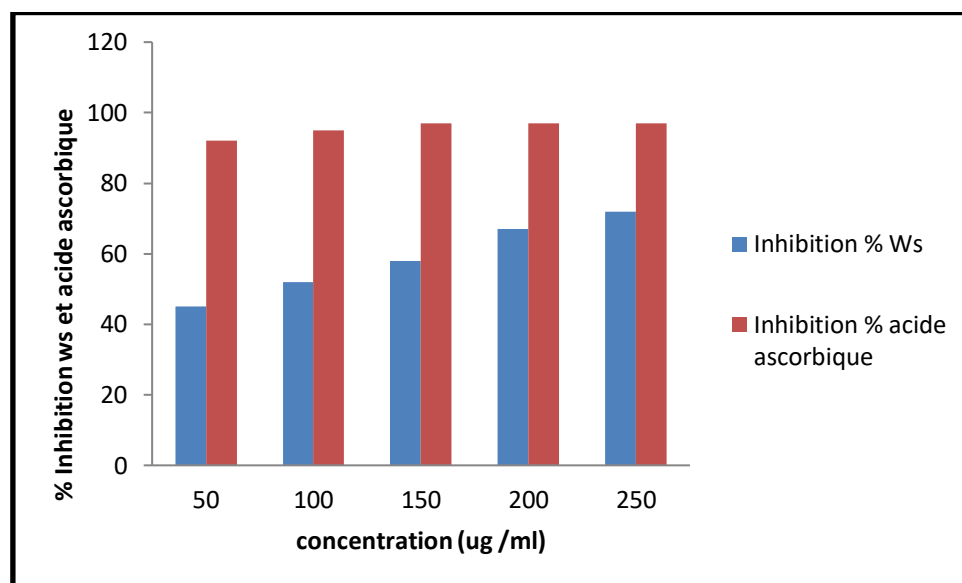


Figure 28 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait de *W. somnifera* et acide Ascorbique.

1.5.2. Détermination d'IC50

La capacité antioxydant de l'extrait a été déterminée à partir de l'IC50 (concentration inhibitrice à 50%), c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical de DPPH. Plus la valeur de IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composant est élevé (**Hebi et Eddouks., 2016**).

Le résultat présenté dans le tableau ci-dessous de l'activité anti-radicalaire de l'extrait des racines d'*Ashwagandha*, montre que l'extrait testé possède une activité anti radicalaire avec un IC50% de l'ordre de 32.18 µg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un IC50%= 5.68 µg/ml,

Tableau 9 : Valeurs des IC50 de l'extrait méthanolique de *W. somnifera* et du standard.

Echantillon	IC 50% (µg/ml)
Acide ascorbique	5.68
Extrait méthanolique <i>W.somnifera</i>	32.18

Selon les résultats de l'activité antioxydant, on observe une augmentation du taux d'inhibition du radical libre DPPH lorsque la concentration de l'extrait méthanolique de *withania somnifera* et de l'acide ascorbique augmente. Il est observé que la concentration 250 µg/ml entraîne une augmentation du pouvoir radicalaire, tandis que la concentration de 72% pour *Withania somnifera* est inférieure à celle de l'acide ascorbique pour la même concentration. Ces résultats mettent en évidence que l'acide ascorbique possède un pouvoir anti radicalaire bien supérieur à celui de notre extrait méthanolique. selon le graphique présente les résultats concernant l'activité anti-radicalaire de l'extrait des racines d'*Ashwagandha*. Il montre que l'extrait testé présente une activité anti-radicalaire avec un IC50% d'environ 32.18µg/ml. Contrairement à l'antioxydant classique (l'acide ascorbique) qui présente un IC50% de 5,68 µg/ml. Notre résultats sont en accord avec celle de (**Baghalpour et al., 2023**)

Shahriar et al. 2013, ont trouvé que l'extrait de ashwagandha inhibe 63.61% du radical DPPH a la dose 250 µg /ml, et l'acide ascorique inhibe 92.66% . De plus, Hussain.; et al. 2021 ont obtenus que les pourcentages inhibiteurs étaient de 26,64 ± 0,71 à 100 µg/mL à 77,12 ± 0,70 à 500 µg/mL pour le RCE, et pour le WSE, ils étaient de 21,22 ± 0,73 à 100 µg/mL à 70,09 ± 0,68 à 500 µg/mL. Les valeurs IC50 respectives du RCE et du WSE étaient de 250,10 µg/mL et 309,42 µg/mL par rapport à 25,60 µg/mL d'acide ascorbique.

D'après nos résultats l'*Ashwagandha* possède de bonnes propriétés antioxydantes et pourrait être attribuée à la présence de flavonoïdes (**Srivastav et Das., 2014**).

1.6. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

1.6.1. Inhibition de la dénaturation du BSA

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

La figure 29 représente la variation du pourcentage de la protection de l'albumine bovine contre sa dénaturation thermique. Ceci par différentes concentrations de l'extrait testé. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux enregistrés pour le diclofenac (Molécule de référence).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *W.somnifera* exprime un taux de protection important allant de 29 à 66% à des concentrations variant de 500 à 2500µg/mL.

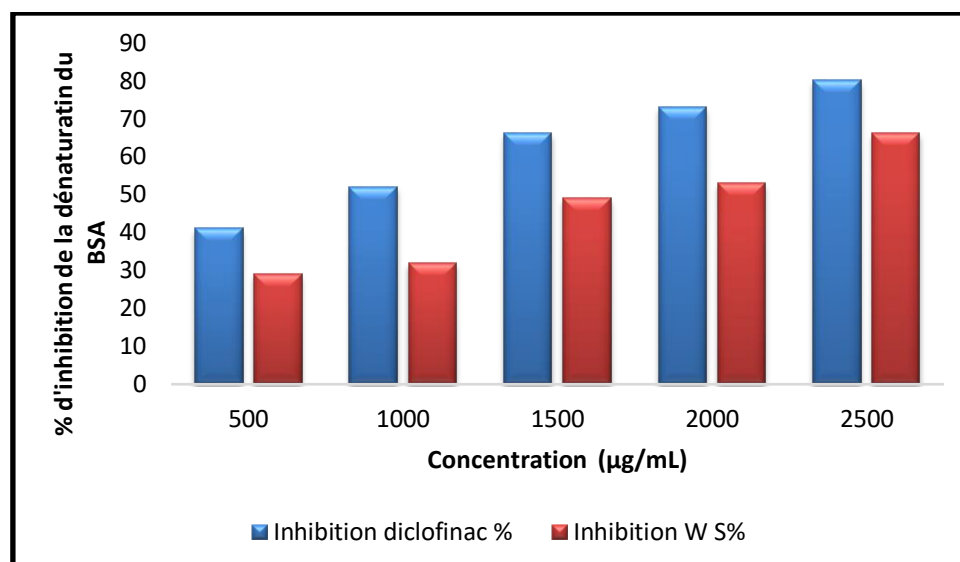


Figure 29: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA de l'extrait méthanolique de *W.somnifera* et du standard (diclofenac).

La dénaturation protéique a été employée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. À des concentrations allant de 500 à 2500 µg/mL, l'extrait méthanolique d'*Ashwagandha* présente un taux de protection élevé de 29 à 66%, et il possède une activité anti-inflammatoire puissante, par retour d'information le diclofénac a prouvé son maximum d'efficacité anti-inflammatoire.

L'activation incontrôlée ou prolongée de l'inflammation peut provoquer des altérations dangereuses, telles que la dénaturation de protéines. Ces dernières subissent une perte de leur structure qui aboutit à l'exposition d'auto antigènes (Clos, 2012), auparavant cryptiques, donnant naissance à de nombreuses maladies (arthritiques, rhumatoïdes,...) (Lanneau, 2010). La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires et arthritiques, aboutissant à la production d'auto-antigènes (Williams *et al.*, 2008). Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (Manvarmital *et Desai*, 2014). Ce type d'inhibition de la dénaturation de la BSA est une caractéristique typique des composés anti- inflammatoires

L'activité anti-dénaturante de l'extrait pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines ex : albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (Williams *et al.*, 2002). Lu et ses collaborateurs ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine

traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques (**Lu et al., 2008**). En effet selon l'étude effectuée par **Dufour et Dangles** (2004) sur l'interaction des flavonoïdes avec l'albumine, cette dernière possède une forte affinité pour la quercetine, ce qui pourrait expliquer l'activité protectrice des polyphénols contre la dénaturation thermique de l'albumine.

L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les polyphénols, flavonoïdes et les tannins dans l'extrait trouvés lors des criblages phytochimiques.

De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de *Withania somnifera* sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines (**Lalit et Arun, 2014 ; Baghalpour et al., 2023**)

Conclusion et perspectives



Les plantes médicinales demeurent l'origine parfaite des métabolites secondaires, ce qui explique leur utilisation croissante dans le domaine pharmaceutique.

Afin d'évaluer le pouvoir thérapeutique, ainsi que les aspects nutritionnels et économiques de ces plantes, des tests biologiques et des tests de criblage phytochimique sont réalisés. Dans ce contexte, de nombreuses études ont été menées et sont en cours pour valoriser des plantes médicinales déjà connues, inconnues ou récemment découvertes, rencontrant un grand succès à l'échelle mondiale, continentale ou nationale, comme c'est le cas de la plante *Withania somnifera*.

Dans cette optique, notre travail s'est concentré sur la réalisation d'une enquête ethnobotanique et des tests préliminaires pour analyser quantitativement l'extrait méthanolique du racine de *W. somnifera*, suivis d'un criblage phytochimique et d'une étude des activités biologiques (antioxydant et anti-inflammatoire).

Le test de criblage phytochimique a révélé que l'extrait méthanolique de *W. somnifera* donne un rendement égale à 3.77% est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes glycosides, les saponines, les mucilages, les leuco-anthocyanes, les phénols, les alcaloïdes, les coumarines, les anthocyanes, les saponosides et les glycosides, avec l'absence des sucres réducteurs, les tanins vrais, les tanins condensé et les quinones.

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux dans l'extrait analysé montre qu'il est riche par ce métabolite avec un teneur égale (24.20 µg EQ/g MS).

L'activité antioxydante in vitro est aussi étudiée avec la méthode de réduction du radical DPPH qui cible un mécanisme d'action des antioxydants. le teste a montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Selon les résultats obtenus du test de l'effet scavenger du radical DPPH, l'extrait méthanolique testé jouie d'un potentiel anti-radicalaire appréciable surtout avec un IC50 de 32.18 µg/ml.

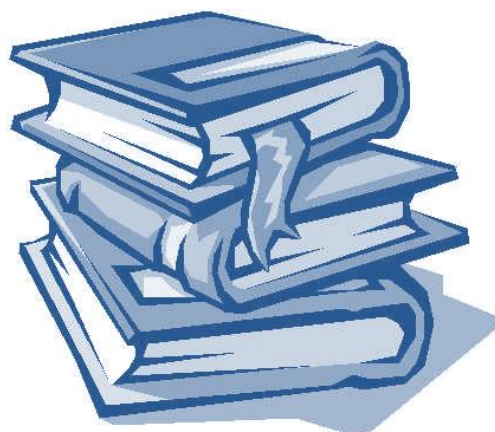
L'activité anti-inflammatoire a été évaluée en utilisant la méthode de dénaturation protéique du BSA. L'extrait méthanolique de l'*Ashwagandha* à un taux de protection élevé de 29 à 66% à des concentrations allant de 500 à 2500µg/mL, et il a une activité anti-inflammatoire puissante.

Toutefois, des études supplémentaires et complémentaires sont suggérées, notamment :

- Optimisation des techniques d'extraction : Perfectionner les méthodes d'extraction pour maximiser les composés bioactifs et minimiser l'impact environnemental

- Études mécanistiques : Explorer les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire pour mieux comprendre les effets thérapeutiques.
- Formulations innovantes : Développer des formulations telles que les nanoparticules et les systèmes de libération prolongée pour améliorer la biodisponibilité et l'efficacité.
- Applications cliniques : Réaliser des essais cliniques pour confirmer les bénéfices thérapeutiques et cibler des populations spécifiques.
- Sécurité et toxicologie: Conduire des études toxicologiques pour assurer la sécurité à long terme des extraits.

Références Bibliographiques



-A-

Afewerky, H., Ayodeji, A., Tihamiyu, B., Orege, J., Okeke, E., Oyejobi, A., et al. (2021). Critical review of the *Withania somnifera* (L.) Dunal: ethnobotany, pharmacological efficacy, and commercialization significance in Africa. Bulletin of the National Research Centre, 45, 1-16.

Alhakmani F, Kumar S, Khan SA. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. Asian Pac J Trop Biomed. 2013 3(8):623-7

Ambrose, D., Manickavasagan, A., & Naik, R. (2016). Leafy medicinal herbs: botany, chemistry, postharvest technology and uses. Boston: CABI.

Aslam, S., Raja, N., Hussain, M., Iqbal, M., Ejaz, M., & Ashfaq, D. (2017). Current Status of *Withania somnifera* (L.) Dunal: An Endangered Medicinal Plant from Himalaya. American Journal of Plant Sciences, 8(05), 1159-1169.

-B-

Bano, A., Sharma, N., Dhaliwal, H., & Sharma, V. (2015). A Systematic and Comprehensive Review on *Withania somnifera* (L.) Dunal- An Indian Ginseng. British Journal of Pharmaceutical Research, 7(2), 63-75.

Bara, J., Soni, R., Jaiswal, S., & Saksena, P. (2016). Phytochemical Study of the Plant *Withania somnifera* against Various Diseases. Journal of Agriculture and Veterinary Science, 9, 109-112.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181(4617), 1199–1200.

Bruneton J. (1993). -Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales.2èmeédition, lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

-C-

Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, P 241 .

Chourasiya, S., & Mahobiya, P. (2022). Research trends in Medicinal plants Sciences. India: AkiNik Publications

-D-

Dar, N., Hamid, A., & Ahmad, M. (2015). Pharmacologic overview of *Withania somnifera*, the Indian Ginseng. Cellular and Molecular Life Sciences, 72, 4445-4460.

-F-

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, 108 – 115.

Fouché, J., Maquet, A., & Hambuchès, K. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament ; Observation du Monde des plantes Sart-Tilman.

-I-

Iserin, P. 2001 . Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-Bordas, Paris:27

-G-

Garje , S., Ghadage , M., Gange , O., Gaikwad , M., & Chavhan , A. (2022). Health Benefits and Medicinal Potency of *Withania somnifera*: A Review. Journal of Emerging Technologies and Innovative Research, 9, 706-713.

Gaurav, H., Yadav, D., Maurya, A., Yadav, H., Yadav, R., & Shukla, A. (2023). Biodiversity, Biochemical Profiling, and Pharmaco-Commercial Applications of *Withania somnifera*: A Review. Molecules, 28 (3), 1208.

-J-

Jana, S., & Madhu Charan, S. (2018). Health Benefits and Medicinal Potency of *Withania somnifera*: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 48(1), 22-29.

-K-

Krshak E. (2022). Retrieved Mars 1, 2024, from The History Of Ashwagandha In Ayurveda:

-M-

Mandlik, D., & Namdeo, A. (2021). Pharmacological evaluation of Ashwagandha highlighting its healthcare claims, safety, and toxicity aspects. *Journal of Dietary Supplements*, 18(2), 183-226.

Meena, L., Meena, A., Gupta, J., Patel, M., Khan, S., Kumar, S., et al. (2020). *Ashwagandha (Withania somnifera L.) Medicinal Plants in India: Importance and Cultivation.* Delhi, India: Jaya publishing house.

Mir, B., Khazir, J., Mir, N., Hasan, T.-u., & Koul, S. (2012). Botanical, chemical and pharmacological review of *Withania somnifera* (Indianginseng): an ayurvedic medicinal plant. *Indian Journal of Drugs and Diseases*, 1(6), 2278-2958.

Narinderpal, K., Junaid, N., & Raman, B. (2013). A Review on Pharmacological Profile of *Withania somnifera* (Ashwagandha). *Journal of Botanical Sciences*.

-O-

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315

-P-

Pandian, A., Ashokkumar, K., Sekar, S., Sivakumar, P., Selvaraj, K., & Karthik, M. (2020). Botany and Ethnopharmacological Potential of Ashwagandha. *Journal of Current Opinion in Crop Science*, 1(1), 35-40.

Periyasamy, G., Kasyap, H., Nayaka, B., Rajala, S., & Segu, P. (2023). Chemical and pharmacological review of *Withania somnifera*. World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences, 16(02), 165–172.

Poojari, P., Kiran, K., Swathy, P., & Muthusamy, A. (2019). *Withania somnifera* (L.) Dunal: An Overview of Bioactive Molecules, Medicinal Properties and Enhancement of Bioactive Molecules Through Breeding Strategies. In vitro Plant Breeding towards Novel Agronomic Traits: Biotic and Abiotic Stress Tolerance. 1-25.

-S-

Saiyed, A., Jahan, N., Majeedi, S., & Roqaiya, M. (2016). Medicinal properties, phytochemistry and pharmacology of *Withania somnifera*: an important drug of Unani Medicine. Journal of Scientific and Innovative Research, 5(4), 156-160.

Scartezzini, P., & Speroni, E. (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. Journal of Ethnopharmacology, 71(1-2), 23-43.

Sengupta, P., Agarwal, A., Pogrebetskaya, M., Roychoudhury, S., Durairajanayagam, D., & Henkel, R. (2018). Role of *Withania somnifera* (Ashwagandha) in the management of male infertility. Reproductive biomedicine online, 36(3), 311-326.

Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Ayatollahi, S., Kobarfard, F., Staniak, M., Stępień, A., et al. (2021). Chemical Composition, Biological Activity, and Health-Promoting Effects of *Withania somnifera* for PharmaFood Industry Applications. Journal of Food Quality, 2021, 1-14.

Shibu Narayan, J., & Charan, S. (2018). Health Benefits and Medicinal Potency of *Withania somnifera*: A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 48(1), 22-29.

-U-

Uddin, Q., Samiulla, L., Singh, V., & Jamil, S. (2012). Phytochemical and Pharmacological Profile of *Withania somnifera* Dunal: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 170-175.

Site Webographie

-<https://nutrixéal-info.fr/index/ashwagandha>

-<https://www.santarome.fr/blogs/conseils-sante/les-bienfaits-et-proprietes-de-lashwagandha>

-<https://www.bhumijalifesciences.com/blogs/news/ashwagandha-overview-history-uses-benefits-precaution-dosage>

Annexe

Questionnes de l'enquête ethnobotanique l'Ashwaghanda

Q1. Est que vous connaissez *l'Ashwaghanda*?

Oui Non

Q2. Est que vous consommez l'Ashwaghanda ?

Oui Non

Q3. Si non est que quelqu'un de votre entourage la consomme ?

Oui Non

Q4. Si oui de quelle manière vous avez utilisée ?

Tisane En poudre.

Informations personnelles :

Sexe : Femme Homme

Age : <18 18-35 35-55 55-75 >75

Situation familiale :

Célibataire Marié (e) Veuf (Ve) Divorcé (e)

Niveau d'étude :

Analphabète Primaire Secondaire Lycée Université

Profession :

Sans travail Activité privée (Commerçant, Agriculteur...) Salarié(e)

Retraité(e) Femme au foyer

Autre, précisez

Maladies chroniques : Oui Non

Si oui : Diabète HTA Cholestérol AUTRE

Q7. Dans quel but elle est utilisée ?

Fin thérapeutique. Utilisation culinaire.

Autre, précisez:

Q8. Les effets thérapeutiques pour lesquelles vous utilisez *Ashwaghanda* sont :

.....

Q9. Quelle est la quantité que vous prenez

Une dose par jour Deux doses par jour Trois doses par jours.

Q10. Quelle est votre appréciation sur l'efficacité de la plante.

Excellente Bonne Moyenne Aucune

Q11. Est que la plante a des effets indésirables ?

Oui. Non. Vous ne connaissez pas.

Si oui citez-les

Q12.Est que vous mélangez la plante avec d'autres plantes ?

Oui Non.

Si oui citez-les.....

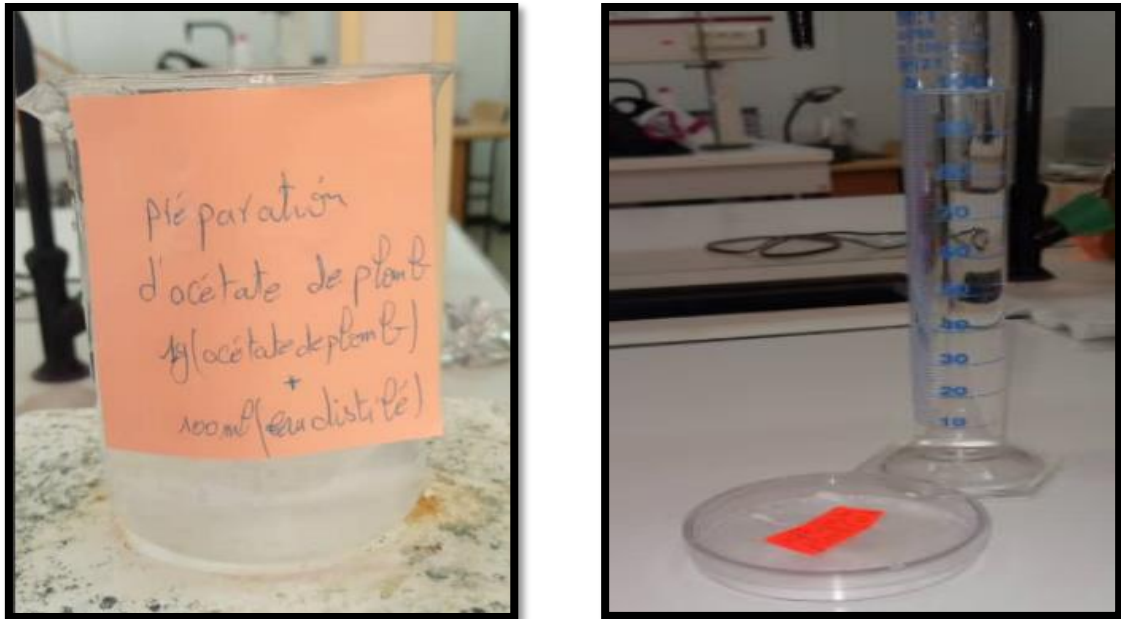


Figure 2. Préparation le test saponoside



Figure 3 . Préparation le test Saponines



Figure 04. Préparation le test coumarines.



Figure 05. Préparation le test mucilage



Figure 06. Préparation le test quinones



Figure 7. Préparation le test leuco -anthocyanes



Figure08. Préparation le test quinones



Figure09 Préparation le test leuco -anthocyanes

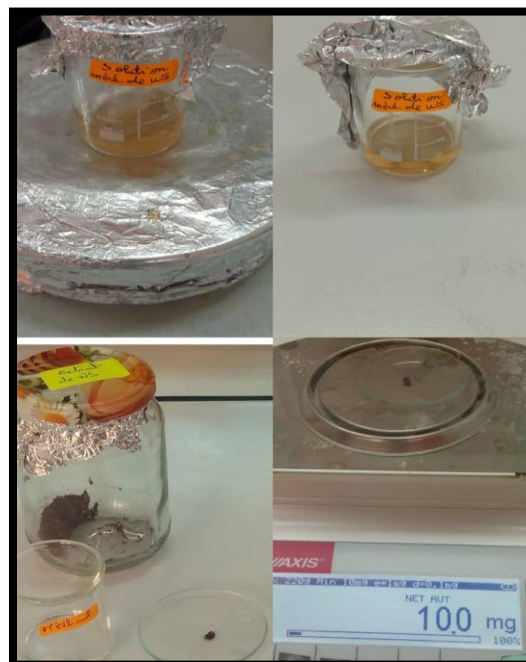


Figure 10. Préparation de solution mère

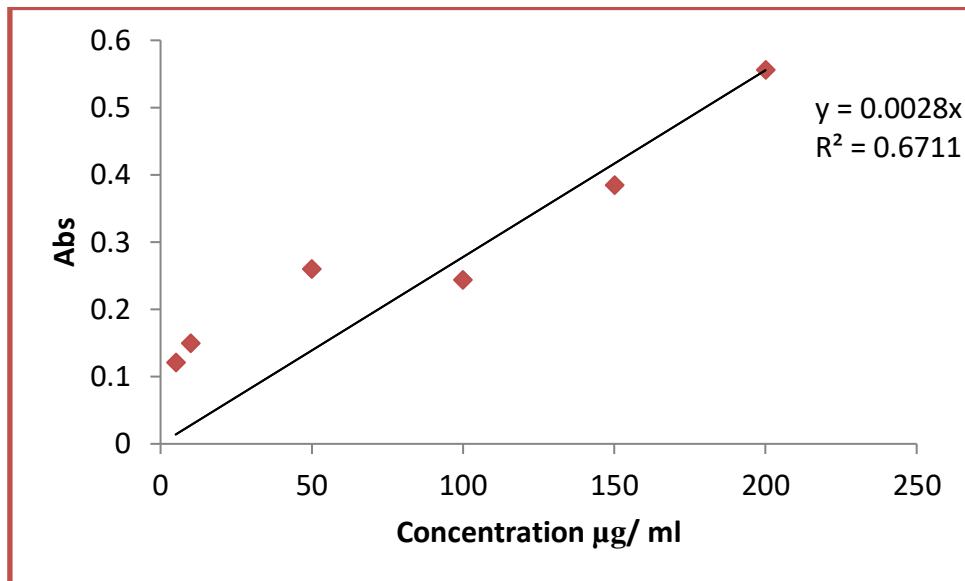


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la quercetine

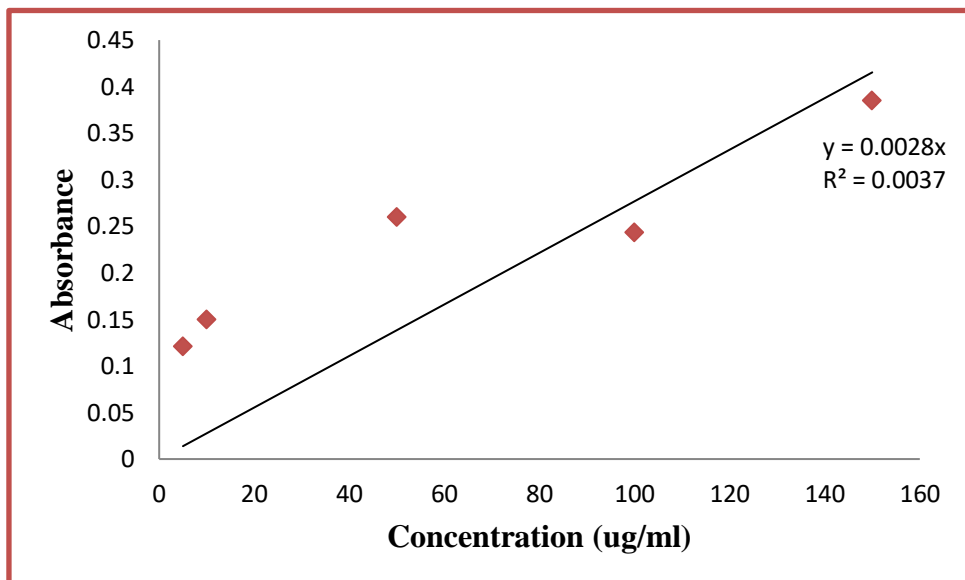


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'Acide ascorbique