

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Université A. Mira de Bejaia*

*Faculté des sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de Biologie Physico-chimique*

## *Mémoire de Master*

*Filière : Biologie*

*Option : Biochimie appliquée*

## *THEME*

**Etude de l'activité anti-radicalaire des extraits aqueux de quatre plantes médicinales de la wilaya de Béjaia:**

***Salvia officinalis, Rhamnus alaternus, Genista ferox & Prasium majus***

**Réalisé par :**

***M<sup>elle</sup> KADRI Yasmina***

***M<sup>elle</sup> KHARFALLAH Narimane***

**Membre de jury :**

**Présidente : *M<sup>me</sup> KADJI.H***

**Promotrice : *M<sup>me</sup> LOUNIS.H***

**Examineurs: *M<sup>me</sup> ABDERRAHIM.S***

***M<sup>r</sup> BOUGUEZZA.Y***

**Grade et lieu :**

**(M.A.A) U.AMB**

**(M.A.A) U.AMB**

**(M.A.A) U.AMB**

**(M.A.A) U.AMB**

***Année: 2012/2013***

# *Table des matières*

<b>Remerciement</b> .....	<b>i</b>
<b>Dédicaces</b> .....	<b>ii</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>vii</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>ix</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>x</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>

## *Synthèse bibliographique*

### **Chapitre I : Les radicaux libres et le stress oxydant**

<b>I-1-Généralités sur les radicaux libres</b> .....	<b>02</b>
<b>I-1-1-Définition</b> .....	<b>02</b>
<b>I-1-2- Classification des radicaux libres</b> .....	<b>02</b>
<b>I-1-2-1-Les radicaux libres primaires</b> .....	<b>02</b>
<b>I-1-2-2-Les radicaux libres secondaires</b> .....	<b>04</b>
<b>I-1-3-Principe sources de production des radicaux libres</b> .....	<b>05</b>
<b>I-1-3-1-Sources endogènes</b> .....	<b>05</b>
<b>I-1-3-2-Sources exogènes</b> .....	<b>06</b>
<b>I-1-4-Rôle des radicaux libres</b> .....	<b>06</b>
<b>I-2-Stress oxydant</b> .....	<b>07</b>
<b>I-2-1-Lésions cellulaires associées aux stress</b> .....	<b>07</b>
<b>I-2-1-1-Peroxydation lipidique</b> .....	<b>07</b>
<b>I-2-1-2- Oxydation des protéines</b> .....	<b>08</b>
<b>I-2-1-3-Oxydation de l'ADN</b> .....	<b>08</b>
<b>I-3-Système de défense contre le stress oxydant</b> .....	<b>08</b>

### **Chapitre II : Systèmes antioxydants**

<b>II-1- Définition des antioxydants</b> .....	<b>09</b>
<b>II-2- Sources des antioxydants</b> .....	<b>09</b>
<b>II-2-1-Source endogène enzymatiques</b> .....	<b>09</b>
<b>II-2-1-1-Superoxydes dismutases (SOD)</b> .....	<b>10</b>
<b>II-2-1-2-Catalase</b> .....	<b>10</b>
<b>II-2-1-3-Glutathion peroxydase et réductase</b> .....	<b>10</b>
<b>II-2-2-Source exogènes non enzymatique</b> .....	<b>10</b>

II-2-2-1-Vitamine E.....	11
II-2-2-2-Vitamine C.....	11
II-2-2-3-Caroténoïdes .....	12
II-2-2-4-Polyphénols .....	12
II-2-2-4-1-Classification des polyphénols .....	13
II-2-2-4-1-1-Phénols simples.....	13
II-2-2-4-1-2-Acides phénoliques .....	14
II-2-2-4-1-3-Flavonoïdes .....	15
II-2-2-4-1-4-Tanins.....	17
II-2-2-4-2-Propriétés biologique des polyphénols.....	19

## *Partie pratique*

### **Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales étudiées**

I-1- <i>Salvia officinalis</i> .....	21
I-2- <i>Rhamnus alaternus</i> .....	22
I-3- <i>Génista ferox</i> .....	23
I-4- <i>Prasum majus</i> .....	24

### **Chapitre II : Matériel et méthodes**

II-1-Matériel végétal .....	25
II-2-Méthodes .....	25
II-2-1-Récolte des plantes .....	25
II-2-2-Préparation des extraits.....	25
II-2-2-1-Séchage et Broyage .....	25
II-2-2-2-Préparation des extraits aqueux .....	25
II-2-3-Dosages des composés phénoliques .....	26
II-2-3-1- Dosage des phénols totaux .....	26
II-2-3-2-Dosage des flavonoïdes .....	27
II-2-4-Evaluation de l'activité antioxydante .....	28
II-2-4-1-Activité scavenging du radical DPPH .....	28
I-2- 4-2-Activité scavenging du radical ABTS <sup>•+</sup> .....	29

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

III-1-Extraction des extraits aqueux .....	31
III-2- Quantification des composés phénoliques .....	32
III-2-1-Dosage des phénols totaux.....	32
III-2-2- Dosage des flavonoïdes.....	34

<b>III-3-Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>35</b>
<b>III-3-1- Activité scavenging du radical DPPH .....</b>	<b>35</b>
<b>III-3-1-1- Activité scavenging à différentes concentrations .....</b>	<b>36</b>
<b>III-3-1-2- Détermination de l'IC<sub>50</sub>.....</b>	<b>37</b>
<b>III-3-1-3-Corrélation .....</b>	<b>38</b>
<b>III-3-2-Réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> .....</b>	<b>39</b>
<b>III-3-2-1- Activité scavenging à différentes concentrations .....</b>	<b>39</b>
<b>III-3-2-2- Détermination de l'IC<sub>50</sub>.....</b>	<b>40</b>
<b>III-3-2-3-Corrélation .....</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>42</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>43</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>I</b>
<b>Glossaire.....</b>	<b>II</b>
<b>Résumé</b>	



## *Liste des figures*

<b>Numéro de figure</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Mécanismes de formation des radicaux libres primaires	<b>2</b>
<b>2</b>	Mécanismes de formation des radicaux libres secondaires	<b>4</b>
<b>3</b>	Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres	<b>5</b>
<b>4</b>	Structure de la vitamine E	<b>11</b>
<b>5</b>	Structure de l'acide ascorbique	<b>11</b>
<b>6</b>	La réaction en synergie des antioxydants (vitamine E, vitamine C et la glutathion)	<b>12</b>
<b>7</b>	Structure du lycopène	<b>12</b>
<b>8</b>	Structure la plus simple des composés phénoliques	<b>13</b>
<b>9</b>	Exemple de quelques acides phénoliques de la série benzoïque	<b>14</b>
<b>10</b>	Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique	<b>14</b>
<b>11</b>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>15</b>
<b>12</b>	Structure des tanins hydrolysables	<b>17</b>
<b>13</b>	Structure de la catéchine et de l'épicatéchine	<b>18</b>
<b>14</b>	Structure des tannins condensés	<b>18</b>
<b>15</b>	Effets biologiques des polyphénols	<b>19</b>
<b>16</b>	Photo de <i>Salvia officinalis</i>	<b>21</b>
<b>17</b>	Photo de <i>Rhamnus alaternus</i>	<b>22</b>
<b>18</b>	Photo de <i>Genista ferox</i>	<b>23</b>
<b>19</b>	Photo de <i>Prasium majus</i>	<b>24</b>
<b>20</b>	Protocole de dosage des phénols totaux	<b>26</b>
<b>21</b>	Protocole de dosage des flavonoïdes	<b>27</b>
<b>22</b>	Structure chimique de forme libre et réduite du DPPH	<b>28</b>
<b>23</b>	Protocole et d'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par La méthode du DPPH	<b>28</b>
<b>24</b>	Formation et piégeage du radicale ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H <sup>•</sup>	<b>29</b>

<b>25</b>	Protocole d'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode de l'ABTS <sup>•+</sup>	<b>30</b>
<b>26</b>	Teneurs en phénols totaux des extraits aqueux des feuilles des plantes étudiées	<b>32</b>
<b>27</b>	Teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux des feuilles des plantes étudiées	<b>34</b>
<b>28</b>	Résultats de l'activité scavenging du DPPH des extraits aqueux et les standards à 100µg/ml	<b>35</b>
<b>29</b>	Activité scavenging du DPPH des extraits aqueux et les standards à différentes concentrations	<b>36</b>
<b>30</b>	Résultats de l'activité scavenging de radical ABTS <sup>•+</sup> des extraits aqueux et les standards à 100µg/ml	<b>39</b>
<b>31</b>	Effet scavenger du radical ABTS <sup>•+</sup> des extraits aqueux et les standards à différentes concentrations	<b>40</b>

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Présentation de quelque sous- classe de flavonoïde	<b>15</b>
<b>II</b>	Classification taxonomique de <i>Salvia officinalis</i>	<b>21</b>
<b>III</b>	Classification taxonomique de <i>Rhamnus alaternus</i>	<b>22</b>
<b>IV</b>	Classification taxonomique de <i>Génista ferox</i>	<b>23</b>
<b>V</b>	Classification taxonomique de <i>Prasuim majus</i>	<b>24</b>
<b>VI</b>	Le rendement d'extraction des extraits aqueux des quatre plantes	<b>31</b>
<b>VII</b>	Valeurs des IC <sub>50</sub> de DPPH des standards et les extraits.	<b>37</b>
<b>VIII</b>	Indice de corrélation entre les composées phénoliques et leurs activités scavenging du radical DPPH	<b>38</b>
<b>IX</b>	Valeurs de l'IC <sub>50</sub> de l'ABTS <sup>*+</sup> des standards et les extraits	<b>41</b>
<b>X</b>	Indice de corrélation entre les composées phénoliques et leurs activités scavenging du radical ABTS <sup>*+</sup>	<b>41</b>



## *Liste des abréviations*

**Abs** : Absorbance

**ABTS**: 2, 2-azino-di (3-ethylbenzthiazoline-sulfonate 6)

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AG** : Acide gallique

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

**CAT** : Catalase

**Cu/Zn-SOD** : Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc

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

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

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GR** : Glutathion réductase

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion-disulfure

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

**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphomolybdique

**H<sub>3</sub> PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungstique

**L•** : Radical alkyle

**LH** : Acide gras polyinsaturé

**LOO•** : Radical peroxyde

**LOOH** : Lipide polyinsaturé peroxydé

**Mn-SOD** : Superoxyde dismutase associée au manganèse

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

**NADPH** : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate

**NADPH, H<sup>+</sup>/NADP<sup>+</sup>** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit/oxydé

**NO<sup>•</sup>** : Monoxyde d'azote

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Anion superoxyde

**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle

**OH<sup>-</sup>** : Ion hydroxyde

**ONOO<sup>-</sup>** : L'anion peroxydinitrite

**R<sup>•</sup>** : Radical

**ROO<sup>•</sup>** : Radical peroxyde

**ROOH** : Peroxydes lipidiques

**SOD** : Superoxyde dismutase

**Vit** : Vitamine

## ***Résumé***

Quatre plantes médicinales locales ont été étudiées à savoir : *Salvia officinalis*, *Rhamnus alaternus*, *Genista ferox* et *Prasium majus*. Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et les activités anti-radicales des extraits aqueux de ces quatre plantes.

L'extrait de *Salvia officinalis* possède la teneur la plus élevée en phénols et en flavonoïdes de 112,88 mg Eq AG /g d'extrait et de 183,88 mg Eq Rutine /g d'extrait, respectivement. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode du radical DPPH montre que les extraits de *Salvia officinalis* et de *Prasium majus* possèdent une forte activité de 91,07% et 89,47%, respectivement, à une concentration de 100µg/ml et leur IC<sub>50</sub> est de l'ordre de 33 et 43 µg/ml, respectivement. Par ailleurs, les extraits *Salvia officinalis* et *Prasium majus* se sont révélés les plus actifs comme inhibiteurs du radical ABTS<sup>•+</sup> de 99,76% et 99,90%, respectivement, à une concentration de 100 µg/ml et leur IC<sub>50</sub> est de 11 et 16 µg/ml, respectivement.

Une corrélation positive entre la teneur en phénols totaux et les différentes activités a été constatée pour les extraits de plantes.

**Mots clés :** *Salvia officinalis*, *Rhamnus alaternus*, *Genista ferox*, *Prasium majus*, phénols totaux, flavonoïdes, DPPH, ABTS<sup>•+</sup>, activité antiradicalaire.

## ***Summary***

Four medicinal plants were studied namely: *Salvia officinalis*, *Rhamnus alaternus*, *Genista ferox* and *Prasium majus*. Our work has focused on the study of Phytochemistry and radical scavenging activities of aqueous extracts of four plants. *Salvia officinalis* extract has the highest content of phenols and flavonoids Eq AG 112.88 mg / g and 183.88 mg extract Rutin Eq / g extract, respectively. The evaluation of the anti-radical activity of the extracts by the method of DPPH radical shows that extracts of *Salvia officinalis* and *Prasium majus* have a high activity of 91.07% and 89.47%, respectively, with IC<sub>50</sub> about 33 and 43 µg / ml, respectively. In addition, *Salvia officinalis* extract and *Prasium majus* have revealed more active as inhibitors of radical ABTS<sup>•+</sup> of 99.76% and 99.90%, respectively, with respective IC<sub>50</sub> of 11 and 16 µg / ml.

A positive correlation between the content of total phenols and various activities was observed for plant extracts.

**Keywords:** *Salvia officinalis*, *Rhamnus alaternus*, *Genista ferox*, *Prasium majus*, total phenols, flavonoids, DPPH, ABTS<sup>•+</sup>, radical scavenging activity.

### *Introduction*

Les plantes médicinales sont à la fois un produit destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives, capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. L'utilisation des plantes en thérapeutique est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public (**Marc et al., 2001**).

Depuis quelques années, le monde scientifique est envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant, qui résulte d'un déséquilibre entre une production de radicaux libres oxygénés et les défenses antioxydantes. Ce phénomène est impliqué dans des pathologies liées au vieillissement, cancer et les maladies neurodégénératives (**Durand et al., 2005**).

Actuellement, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses études suite à leurs intérêts pour leur utilité dans la prévention et le traitement de nombreuses pathologies liées au stress oxydant. Les polyphénols sont les composés actifs les plus abondants dans les extraits de plusieurs plantes médicinales, ils sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et plus particulièrement leurs propriétés piègeurs de radicaux libres. Les recherches sur leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, ont connu un grand développement dans ces dernières années (**D'archivio et al., 2007**).

La présente étude a porté sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits aqueux de quatre plantes médicinales de la Wilaya de Béjaïa contre deux radicaux libres DPPH et ABTS<sup>+</sup>, ainsi que l'analyse quantitative du contenu en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits. C'est plantes sont moins fréquemment employé ou sans application par la population.

# *Synthèse Bibliographique*

## I-1-Généralités sur les radicaux libres

### I-1-1-Définition

Un radical libre est une substance chimique, molécule ou un atome possédant un ou plusieurs électrons célibataires sur sa couche périphérique, ce qui lui confère une grande instabilité et une forte réactivité donc une demi-vie très courte. Ce radical est capable de réagir plus ou moins rapidement avec d'autres molécules biologiques environnantes (Goudable et Favier, 1997).

### I-1-2- Classification des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

#### I-1-2-1-Les radicaux libres primaires

Les radicaux libres primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ) et le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Figure 1) (Favier, 2003).

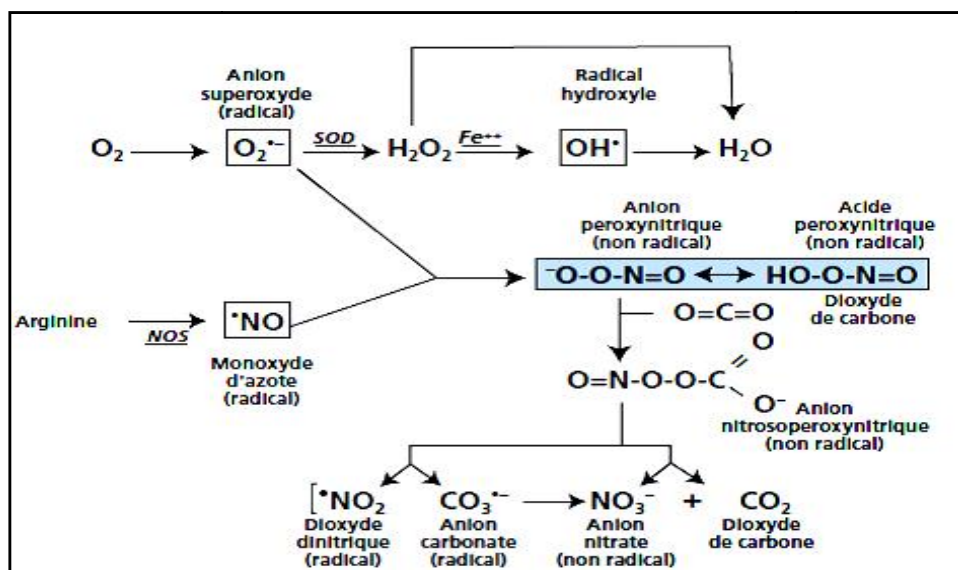
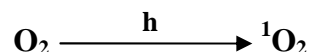


Figure 1 : Mécanismes de formation des radicaux libres primaires (Vamecq et al., 2004)

➤ **L'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ )**

L'oxygène singulet correspond à un état excité de l'oxygène moléculaire, Il est formé par action de la lumière sur l'oxygène (Vamecq et al., 2004) selon la réaction suivante :



➤ **L'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )**

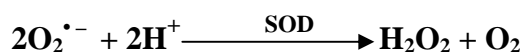
Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5 % de l'oxygène consommé est converti en radical superoxyde. Ceci est dû à des électrons qui s'échappent de la chaîne respiratoire et se fixent directement sur l'oxygène moléculaire (Ré et al., 2005) selon la réaction suivante :



L'anion superoxyde est peu réactif, il ne traverse pas les membranes cellulaires et il est rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène.

➤ **Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )**

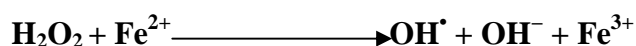
Le peroxyde d'hydrogène se forme par dismutation du l'anion superoxyde, catalysée par un des membres de la famille des superoxydes dismutases (SOD) (Ré et al., 2005) selon la réaction suivante :



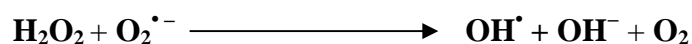
Le peroxyde d'hydrogène est peu réactif mais il a la capacité de traverser les membranes cellulaires.

➤ **Le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ )**

Le radical hydroxyle est formé dans la cellule à partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , en présence de métaux de transition sous leur forme réduite tel que le  $\text{Fe}^{2+}$  (Barouki, 2006) selon la réaction Fenton :



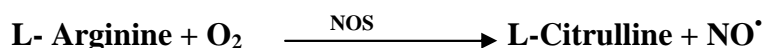
Le peroxyde d'hydrogène peut également réagir avec l'anion superoxyde aboutissant, là encore, à la formation de  $\text{OH}^\bullet$  (Vamecq et al., 2004). Ce phénomène est nommé réaction d'Haber Weiss :



Le radical hydroxyle est très toxique, il traverse les membranes et agit loin de son site de formation. Il attaque toutes les cibles cellulaires (acides nucléiques, acides gras et protéines) et crée des dégâts très importants (Lacan, 2001).

### ➤ L'oxyde nitrique (NO<sup>•</sup>)

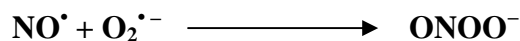
L'oxyde nitrique est synthétisé lors de l'oxydation de l'arginine en citrulline, c'est une réaction catalysée par les NO synthétases (NOS) en présence de l'O<sub>2</sub> (Ré et al., 2005) selon la réaction suivante :



Une production très importante de NO<sup>•</sup> peut avoir des effets toxiques car il peut se combiner avec le radical superoxyde pour donner l'anion peroxydinitrite.

### ➤ L'anion peroxydinitrite (ONOO<sup>-</sup>)

L'anion peroxydinitrite est une espèce oxydante importante, car sa réactivité est assez proche de celle de OH<sup>•</sup> (Vamecq et al., 2004), il est généré selon la réaction suivante :



## I-1-2-2-Les radicaux libres secondaires

Les radicaux libres secondaires ne sont pas formés spontanément. Ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire, tel que le radical peroxyde (ROO<sup>•</sup>) qui est formé après que le radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup> ou OH<sup>•</sup> ait agi sur un acide gras insaturé de la membrane cellulaire. Ces radicaux libres secondaires sont très dangereux puisqu'une fois formés ils sont capables de créer une réaction en chaîne (Figure2) (Lacan, 2001).

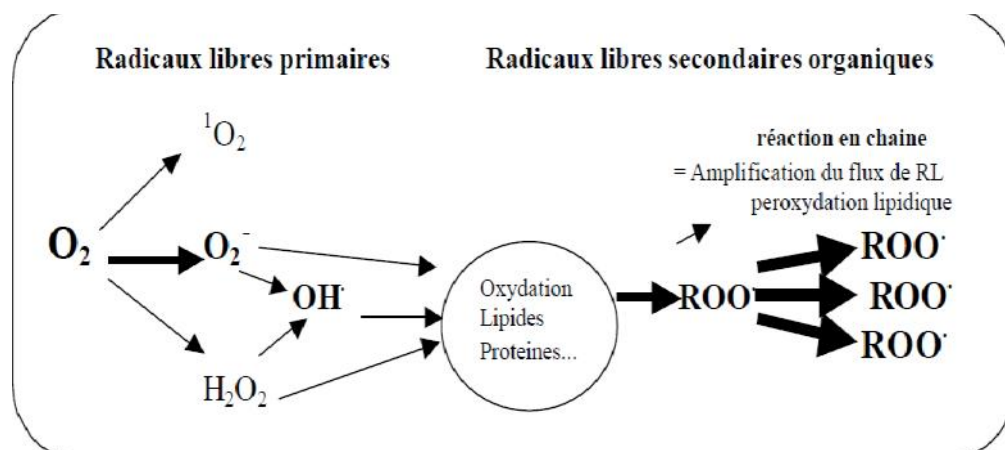


Figure 2 : Mécanismes de formation des radicaux libres secondaires (Lacan, 2001)



### I-1-3-Principe sources de production des radicaux libres

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes.

#### I-1-3-1-Sources endogènes

La production de radicaux libres est largement physiologique. Trois voies principales sont généralement décrites, à savoir la chaîne de transfert des électrons située au niveau des mitochondries, la flambée respiratoire des cellules phagocytaires indispensables à la défense immunitaire, ainsi que l'activité des enzymes de type oxydase (Figure3) (Moffarts et al., 2004).

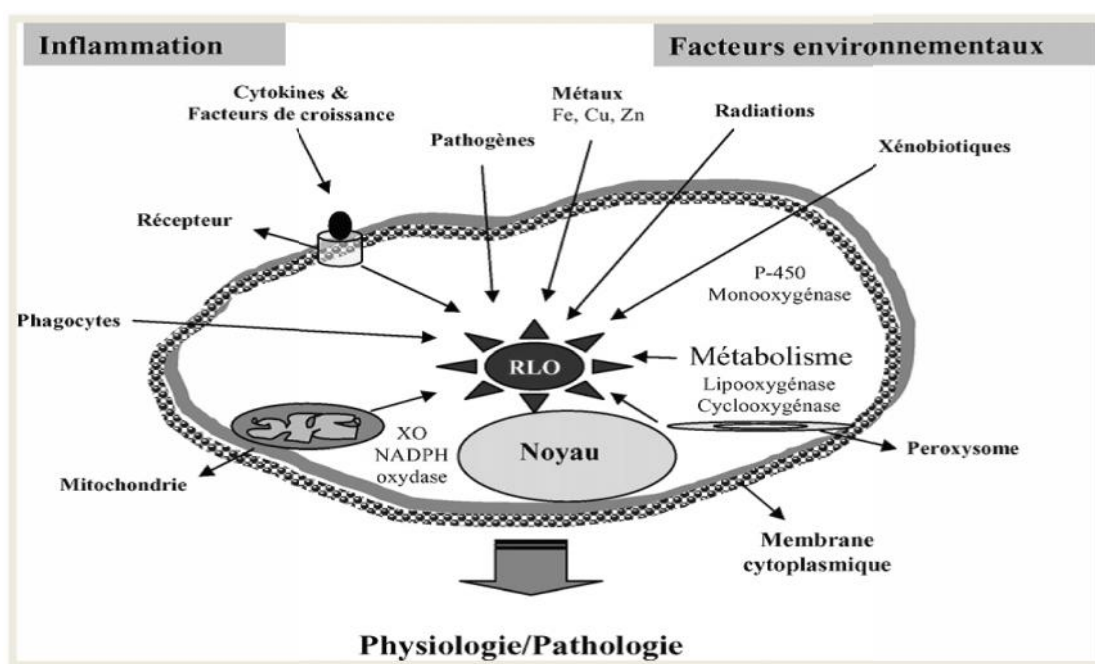


Figure 3: Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres (Afonso et al., 2007)

#### ➤ La respiration cellulaire

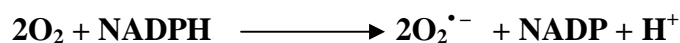
Lors de la respiration cellulaire, 95% de l'oxygène capté est réduit en eau par la chaîne de transport électronique mitochondriale selon l'équation suivante:



Il arrive cependant que certains de ces électrons s'échappent de cette chaîne de transport pour être transférés à l'oxygène; il se forme alors un radical libre : l'anion superoxyde (Colin, 2008).

➤ **Les cellules phagocytaires**

Les cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages) possèdent une enzyme membranaire, la NADPH oxydase, qui utilise l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes nécessaire à la destruction d'éléments étrangers qui seront finalement phagocytés (**Beaudeau et al., 2006**) selon la réaction suivante :



➤ **Activité des enzymes de type oxydase**

Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des radicaux libres au cours de réaction biochimiques (xanthine oxydase, hème oxygénase, cytochrome P450, myéloperoxydase,...) (**Afonso et al., 2007**).

### **I-1-3-2-Sources exogènes**

Les radicaux libres peuvent être d'origine exogène (Figure3). Les ultraviolets et les rayonnements ionisants sont responsables de la formation de l'oxygène singulet. Diverses toxines issues de l'environnement peuvent causer ou promouvoir la formation de radicaux libres, citons entre autres, les oxydes d'azotes présent dans la fumée de cigarette ; les métaux toxiques (chrome, vanadium) ainsi que le fer et le cuivre issus de l'alimentation. Ces sources exogènes liées à l'environnement restent cependant minoritaires en comparaison des sources endogènes (**Finkel et Holbrook, 2000**).

### **I-1-4-Rôle des radicaux libres**

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie.

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production de radicaux libres et les systèmes de défenses antioxydants. Il faut souligner que les radicaux libres peuvent d'ailleurs jouer un rôle physiologique important comme dans la phagocytose des bactéries, la transduction de signaux cellulaires, la destruction par apoptose des cellules tumorales et la différenciation cellulaire (**Pincemail et al., 2002 ; Favier, 2003**).

Dans certaines conditions, une surproduction de radicaux libres due à l'activation de divers mécanismes biochimiques peut submerger rapidement les défenses antioxydantes: c'est le stress oxydant (**Pincemail et al., 1999**).

## I-2-Stress oxydant

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre la production de radicaux libres et les systèmes de défenses antioxydants d'un organisme, en faveur des oxydants (**Fabrice et al., 2009**). Il est potentiellement conduisant à des dégâts cellulaires observés dans les états inflammatoires aigus, le vieillissement, le cancer, le diabète ou les maladies cardiovasculaires. Ce stress oxydant peut avoir diverses origines :

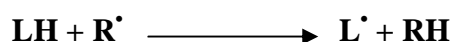
- Défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation (**Fabrice et al., 2009**).
- La production excessive de radicaux libres (**Favier, 2003**).
- La vie moderne nous confronte toutefois à la pollution, à l'exposition prolongée au soleil et à différentes radiations, à l'absorption d'alcool ou de médicaments, au tabagisme qui sont autant de situations qui provoquent dans notre organisme des réactions chimiques de type radicalaires (**Pincemail et al., 1999**).

### I-2-1-Lésions cellulaires associées aux stress

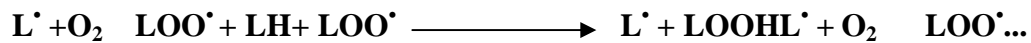
Les dommages cellulaires causés par les radicaux libres sont d'intensité variable, proportionnelle à leur taux de production et à leur durée d'action. Ils peuvent interagir avec des protéines, de l'ADN, des lipoprotéines et des acides gras polyinsaturés pour former des dérivés oxydés pouvant être décelés dans des échantillons biologiques comme le plasma, le sérum ou l'urine (**Pincemail et al., 1999**).

#### I-2-1-1-Peroxydation lipidique

Les radicaux libres peuvent attaquer les lipides, et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables. Ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane et peut aussi altérer le fonctionnement des protéines membranaires. La peroxydation des lipides est généralement initiée par un radical ( $R^\bullet$ ) particulièrement réactif (**Ré et al., 2005**) selon la réaction suivante:



Le radical lipidique ( $L^{\bullet}$ ) formé lors de cette réaction réagit avec l'oxygène pour former un radical peroxyde capable de transformer un autre acide gras polyinsaturé en radical lipidique, propageant ainsi la réaction de peroxydation (**Ré et al., 2005**) selon la réaction suivante :



### I-2-1-2- Oxydation des protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des radicaux libres. Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec altération de leurs structures primaires, secondaires et tertiaire. Les dommages oxydatifs peuvent former de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Pincemail et al., 1999**).

### I-2-1-3-Oxydation de l'ADN

Les radicaux libres peuvent provoquer des lésions des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des mutations ou d'altérer l'expression des gènes. Il peut y avoir des modifications oxydatives différentes des acides nucléiques, certaines affectant les bases d'autres induisant des cassures dans les brins (**Ré et al., 2005**).

### I-3-Système de défense contre le stress oxydant

Une fois formées, les radicaux libres peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques. Afin que les radicaux libres n'exercent donc pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose, pour maintenir ces radicaux libres à des concentrations relativement faibles, de systèmes de défense : les antioxydants (**Pincemail et Defraigne, 2004**).

La présence d'antioxydants dans différents compartiments cellulaires assure un bon contrôle sur les radicaux libres. En effet, certains antioxydants sont logés dans les membranes, tandis que d'autres sont plutôt retrouvés dans les mitochondries, le cytosol, les peroxysomes et le noyau. De plus, l'organisme peut combattre les radicaux libres avec des antioxydants extracellulaires (**Bérubé et al., 2000**).

## II-1- Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui se présentent à faible concentrations par rapport à un substrat oxydable, peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat ; soit par leur action directe soit par le biais d'enzymes qui en dépendent. Ils interagissent et se régénèrent mutuellement (Pincemail et al., 1998 ; Fabien, 2002).

## II-2- Sources des antioxydants

Il existe deux sources de défenses antioxydantes :

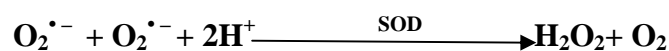
- Source endogène et se compose d'enzymes telles que superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et catalase ;
- Source exogène, apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riche en vitamines C et E, en caroténoïdes, en ubiquinones, en flavonoïdes....etc.

A ces deux principales sources s'ajoutent d'autres oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs indispensables à l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Pincemail et Defraigne, 2004).

### II-2-1-Source endogène enzymatiques

#### II-2-1-1-Superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases sont des metalloenzymes qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire (Vamecq et al., 2004) selon la réaction suivante:



Il en existe trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD : une SOD contenant du cuivre et du zinc (Cu Zn-SOD), localisée dans le cytosol des cellules eucaryotes et dans les globules rouges; une SOD contenant du manganèse (Mn), située dans les mitochondries et un facteur de haut poids moléculaire à activité SOD (EC-SOD) situé dans le plasma et les poumons humains (Afonso et al., 2007).

### II-2-1-2-Catalase

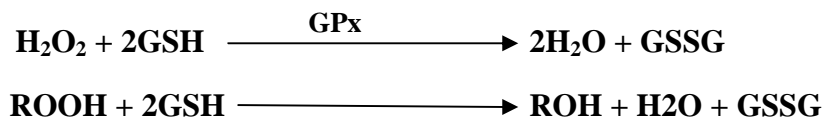
La catalase est une enzyme tétramérique qui transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composées stables (Nicholls, 2012) selon la réaction suivante :



Elle est principalement présente dans les peroxysomes de diverses cellules, dans les plaquettes et le cytoplasme des érythrocytes.

### II-2-1-3-Glutathion peroxydase et réductase

Ces deux enzymes présentent dans le cytoplasme et dans la mitochondrie. La glutathion peroxydase est une glycoprotéine tétramérique qui réduit d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part tous les peroxydes lipidiques. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Laguerre et al., 2007) selon la réaction suivante :



La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH (Arthur, 2000) selon la réaction suivante :

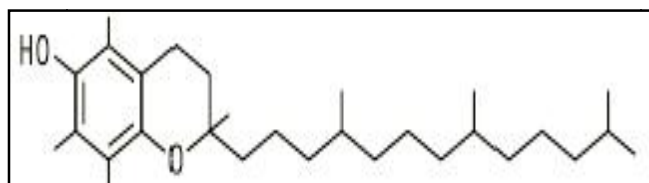


### II-2-2-Source exogènes non enzymatique

Les antioxydants d'origine alimentaire se caractérisent par leur diversité : certains sont liposolubles ( -tocophérols, -carotène, lycopène...etc.), d'autres sont hydrosolubles (vitamines C, polyphénols).

### II-2-2-1-Vitamine E

La vitamine E ou tocophérol (figure 4) est une vitamine liposoluble que l'on rencontre surtout dans les huiles végétale, les noix, les fruits et les légumes.



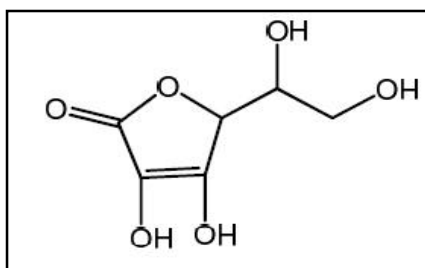
**Figure 4 :** Structure de la vitamine E (Marc et al., 2004)

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature ; les  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -tocophérols et tocotriénols. Les rôles fondamentaux des tocophérols sont la protection antioxydante des membranes cellulaires, en capturant les radicaux peroxyyles (Cuvelier et al., 2003) selon la réaction suivante:



### II-2-2-2-Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique (Figure 5) est une vitamine hydrosoluble largement répondeue dans les fruits et les légumes.



**Figure 5 :** Structure de l'acide ascorbique (Marc et al., 2004)

Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyyles aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle ; en piégeant les radicaux peroxyyles dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (Delattre et al., 2005). Il permet aussi la régénération de la vitamine E et du glutathion nécessaire à la glutathion-peroxydase.

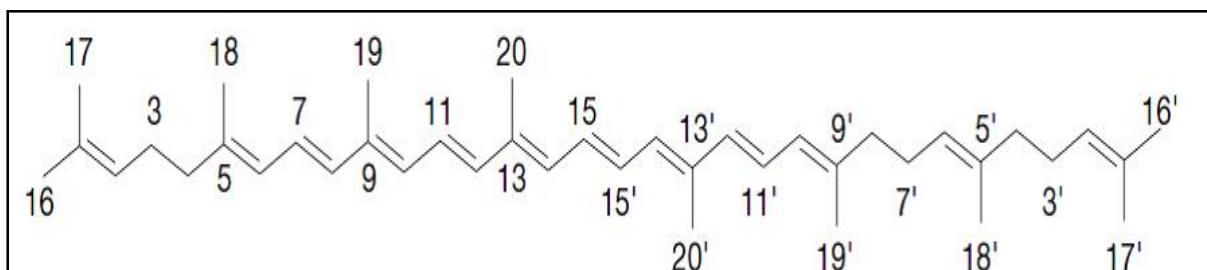
Il est remarquable de constater que ces substances antioxydantes (Vitamine C, E et GPx) peuvent agir en synergie dans leur lutte contre les radicaux libres (Figure 6) (Pincemail et al., 1998).



**Figure 6:** La réaction en synergie des antioxydants (vitamine E, vitamine C et la glutathion) (Pincemail et al., 1998)

### II-2-2-3-Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un ensemble de pigments naturels liposolubles comprend des molécules tétraterpéniques formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques ( $C_5H_8$ ), dont plus de 600 ont été isolés et caractérisés. Ils participent à la coloration des fleurs, des fruits, des racines, en jaune, orange ou en rouge. Tous les caroténoïdes dérivent par cyclisation, déshydrogénation et oxydation de la même molécule ( $C_{40}H_{56}$ ) : le lycopène (Figure 7) (Derbel et Ghedira, 2005).

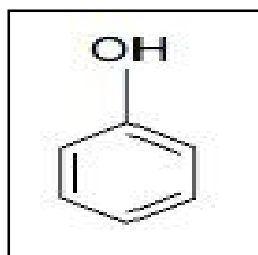


**Figure 7:** Structure du lycopène (Derbel et Ghedira, 2005)

### II-2-2-4-Polyphénols

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Mehinagic et al., 2011). L'élément structural qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester et hétéroside (Figure 8) (Bruneton, 1999).





**Figure 8 :** Structure la plus simple des composés phénoliques (Mehinagic et al., 2011)

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002) :

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit à la transamination des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés tel que les acides benzoïques, les phénols simples, lignanes, coumarines...etc ;
- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly  $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que chronones, xanthones, les naphthoquinones...etc.

#### II-2-2-4-1-Classification des polyphénols

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existent également (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

##### II-2-2-4-1-1-Phénols simples

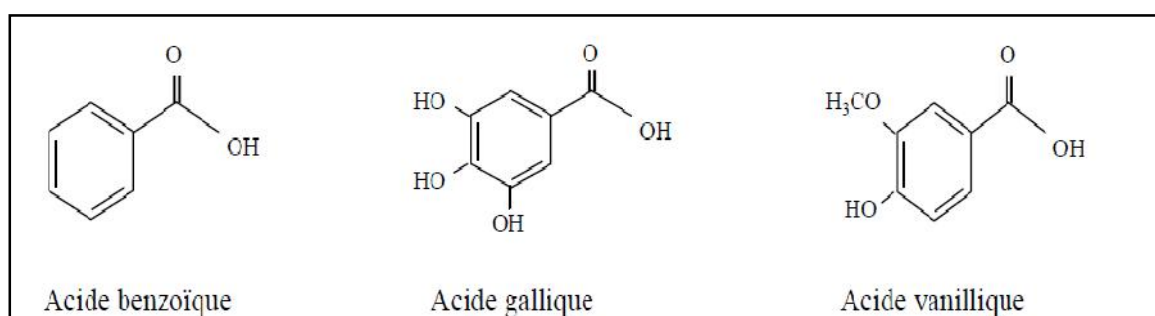
Les phénols simples sont des dérivés en C<sub>6</sub> du noyau benzénique, rares à l'état naturel et issus de la décarboxylation de l'acide shikimique. On trouve parmi les phénols simples l'hydroquinol, le pyrocatechol et le phloroglucinol (Chira et al., 2008).

### II-2-2-4-1-2-Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

➤ **Acides hydroxybenzoïques**

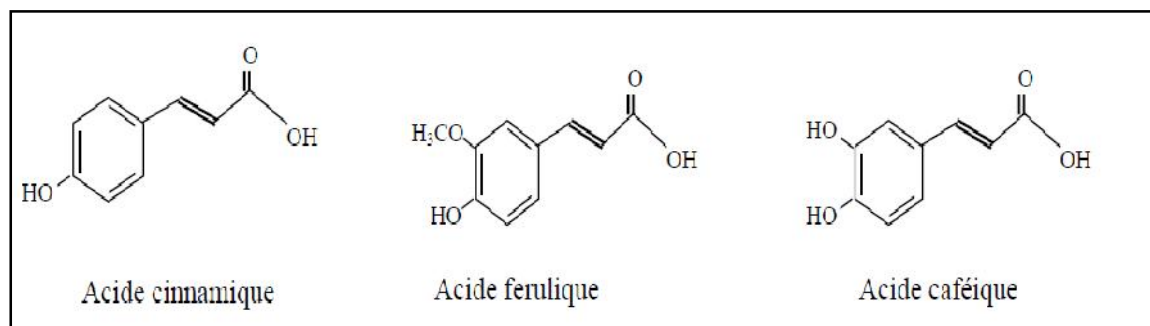
Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque. Ils sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique (Figure 9) (Bruneton, 1999 ; Chira *et al.*, 2008).



**Figure 9** : Exemple de quelques acides phénoliques de la série benzoïque (Pawlowska *et al.*, 2006)

➤ **Acides hydroxycinnamiques**

L'acide cinnamique est un composé C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> produit par une désamination de la phénylalanine, leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en ester d'alcool aliphatique. Les acides hydroxycinnamiques communs sont les acides caféique, férulique et sinapique (Figure 10) (Chira *et al.*, 2008).



**Figure 10** : Exemple de quelques acides phénoliques de la série cinnamique (Pawlowska *et al.*, 2006)

## II-2-2-4-1-3-Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments presque toujours hydrosolubles responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005). Ils ont un origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle (Figure 11) (Chira et al., 2008).

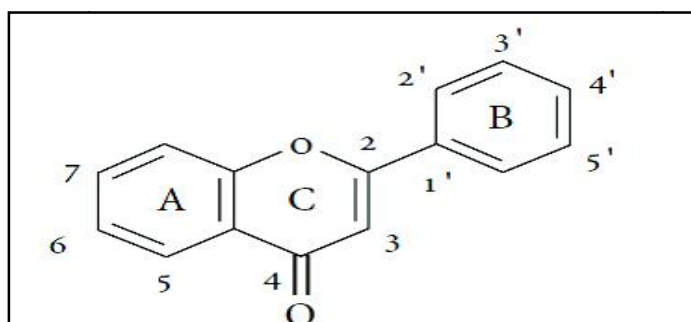
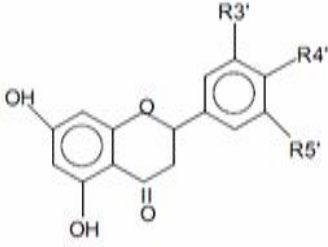
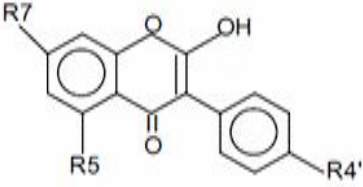
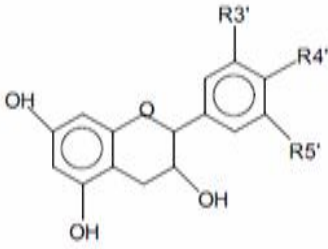
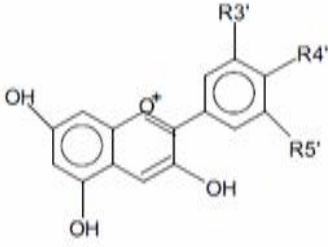


Figure 11: Squelette de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation, permettent de distinguer les différentes sous-classes de flavonoïdes (Tableau I).

**Tableau I:** Présentation de quelque sous- classe de flavonoïde (Kelly et al., 2002 ; Chira et al., 2008).

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
<p><b>Flavonols</b></p>	Quercétine Kacmpférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
<p><b>Flavones</b></p>	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques, les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration

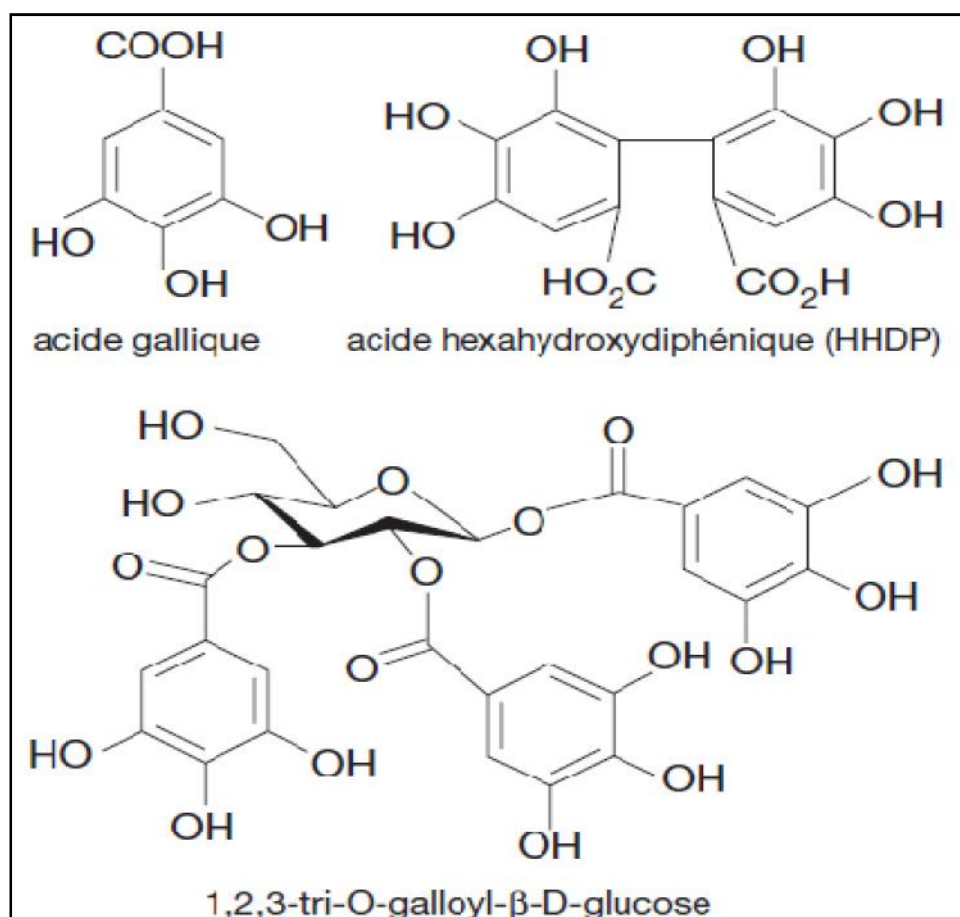
<p><b>Flavanones</b></p> 	<p>Naringénine Eriodictyol</p>	<p>Fruits du genre Citrus.</p>	<p>Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3, le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.</p>
<p><b>Isoflavones</b></p> 	<p>Genisteine Daidzeine</p>	<p>Graines de soja et produits qui en dérivent.</p>	<p>Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.</p>
<p><b>Flavan3-ols</b></p> 	<p>Catéchine Epicatéchine Epigallocatec -hine</p>	<p>Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat.</p>	<p>Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques</p>
<p><b>Anthocyanidines</b></p> 	<p>Cyanidine Delphénidine</p>	<p>Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.</p>	<p>Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.</p>

#### II-2-2-4-1-4-Tanins

Les tanins sont de groupe hétérogène de dérivés phénoliques végétaux, d'une structure variée, très répandus dans le règne végétal dans divers organes : les racines, les écorces, feuilles, fleurs et les graines (Haslam et Cari ,1994). On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leurs structure aussi bien que par leurs origine biogénétique.

##### ➤ Tanins hydrolysables

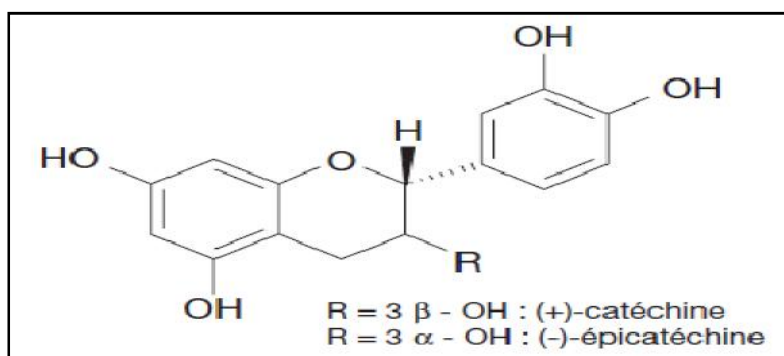
Les tanins hydrolysables sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un acide phénol, pouvant être l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, ou l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (Figure 12) (Zimmer et Cordesse, 1996).



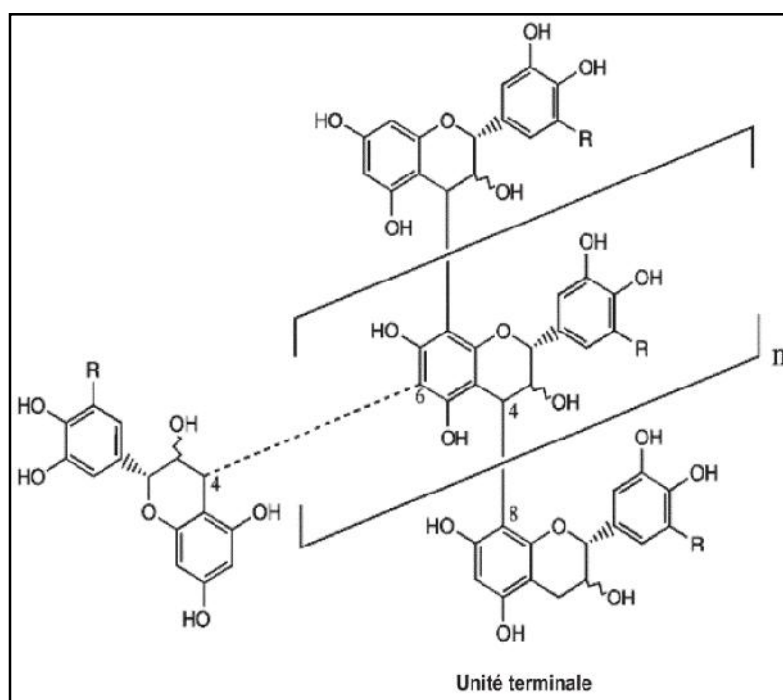
**Figure 12:** Structure des tanins hydrolysables (Derbel et Ghedira, 2005)

➤ **Tanins condensés**

Les tanins condensés sont des polymères de flavonoïdes flavan-3-ols [(+)-catéchine ou (-)-épicatéchine] (Figure 13) liés par des liaisons C-C. Les monomères peuvent être liés par des liaisons C4-C8 ou C4-C6 qui affectent la forme de la chaîne de polymères. Différentes combinaisons des groupes OH et H des unités de monomères conduisent à différentes classes de polymères (Figure 14) (Aufreere et al., 2012).



**Figure 13:** Structure de la catéchine et de l'épicatéchine (Derbel et Ghedira, 2005)

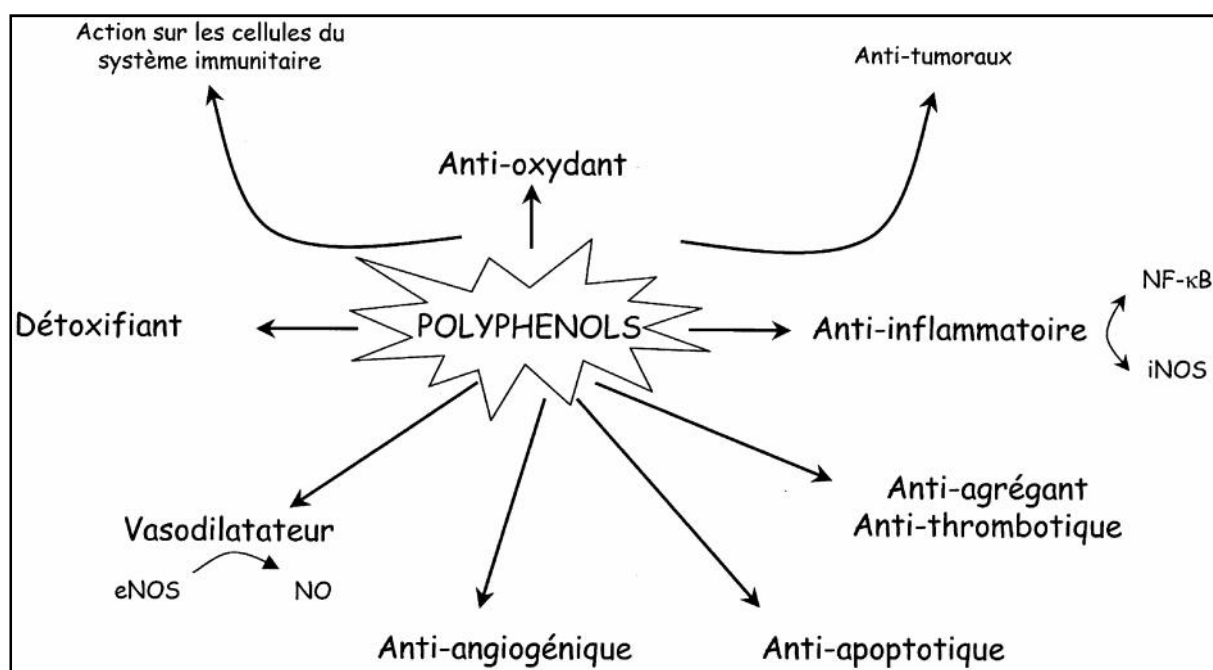


**Figure 14:** Structure des tanins condensés (Aufreere et al., 2012)



### II-2-2-4-2-Propriétés biologique des polyphénols

Les polyphénols sont les composés naturels les plus abondants dans notre alimentation, leur consommation réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies. Plusieurs études ont permis de définir des propriétés importantes de ces composés telles que anti-inflammatoire, anti-tumoraux et antioxydant (Figure15) (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

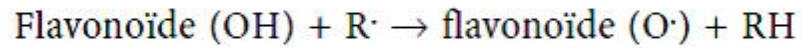


**Figure 15 :** Effets biologiques des polyphénols (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

#### ➤ Activité antioxydante

L'activité antioxydante des polyphénols dépend de leur nature chimique et elle varie en fonction de la position des groupements OH et leurs degrés d'hydroxylation (**Yohan, 2004**). En effet, chaque classe chimique des composés phénoliques est douée d'une activité antioxydante spécifique : éliminateurs de radicaux libre, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés (**Shahidi et al., 2003**).

- ✓ Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro-oxydants : radicaux hydroxyles, anions superoxydes et radicaux peroxylipidiques, grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (**Ghedira, 2005**) selon la réaction suivante :



En plus, Les flavonoïdes ont une activité chélatrice des métaux tels que cuivre et le fer, qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres (**Alan et Miller, 1996**).

- ✓ Les tanins présentent aussi un grand pouvoir antioxydant. Les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides, cependant les tanins condensés inhibent la formation des superoxydes, les catéchols piègent les radicaux libres, chélatent les ions métalliques et préservent d'autres antioxydants comme la vitamine E (**Derbel et Ghedira, 2005**).



# *Partie Pratique*

**I-1- *Salvia officinalis*****➤ Description botanique**

C'est une plante appartenant à la famille des Lamiacées, localement connue sous le nom de « Tazzourt » en Algérie, il existe environ 500 espèces de *Salvia*. Sous-arbrisseau à base ligneuse de 50 à 80 cm ; tiges herbacées dressées, feuilles allongées, ovales, lancéolées, finement gaufrées, vert grisâtre. Fleures violettes en épi. Originaire des pourtours de la méditerranée (Figure 16) (Schauenberg et Ferdinand, 2010).



**Figure 16 :** Photo de *Salvia officinalis* (Schauenberg et Ferdinand, 2010)

**➤ Position systématique**

Le tableau ci-dessous montre la classification de *Salvia officinalis*.

**Tableau II :** Classification taxonomique de *Salvia officinalis* (Quézel et Santa, 1963)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i>

➤ **Propriétés thérapeutiques**

La sauge est utilisée depuis l'antiquité ; elle possède des propriétés : stimulante, tonique, digestive, fébrifuge et vulnéraire. La tisane de sauge est efficace pour faciliter la digestion, relever les forces de l'estomac et de l'intestin, calme les vomissements spasmodiques. On l'emploie avantageusement contre la diarrhée (Beloued, 2009).

**I-2- *Rhamnus alaternus***

➤ **Description botanique**

C'est un arbuste glabre de la famille des Rhamnacées, pouvant atteindre 1 à 5 m de hauteur, localement connue sous le nom de « Imlilas » en Algérie. Les feuilles sont persistantes, coriaces, alternes, ovales, lancéolées et lâchement dentées ou entières. Les fleurs unisexuées et jaunâtres. Le fruit est une baie d'abord rouge puis noire. D'origine méditerranéenne (Figure 17) (Beloued, 2009).



**Figure 17 :** Photo de *Rhamnus alaternus* (Beloued, 2009).

➤ **Position systématique**

Le tableau ci-dessous montre la classification de *Rhamnus alaternus*

**Tableau III :** Classification taxonomique de *Rhamnus alaternus* (Quézel et Santa, 1963)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	<i>Rhamnus</i>
Espèce	<i>Rhamnus alaternus</i>

➤ **Propriétés phytothérapie**

Les fruits de cette plante renferme un principe actif, la rhamnine, qui leur donne des vertus purgatives, elles constituent en effet, un purgatif très énergique et d'un emploi sûr. L'écorce de la racine ou du tronc de nerprun sont utilisés avantageusement contre la jaunisse. (Beloued, 2009).

### I-3-*Génista ferox*

➤ **Description botanique**

C'est un arbuste de la famille des Fabacées à 3 m, localement connue sous le nom de « Tafrakla » en Algérie. Feuilles stipulées à stipules transformées en petits aiguillons, Calice presque glabre, caduc en entier ou en partie sur la gousse, se coupant circulairement au-dessus de la base, celle-ci longue de 3-4 cm, folioles ovales larges de 3 à 4 mm. Fleurs jaunâtres en grappes. D'origine méditerranéenne (Figure 18) (Mekkiou, 2005).



Figure 18 : Photo de *Génista ferox* (Mekkiou, 2005).

➤ **Position systématique**

Le tableau ci-dessous montre la classification de *Génista ferox*

Tableau IV: Classification taxonomique de *Génista ferox* (Quézel et Santa, 1963)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Genista</i>
Espèce	<i>Génista ferox</i>

➤ **Propriétés thérapeutique**

L'utilisation des parties aériennes de cette plante en médecine traditionnelle notamment comme substance cicatrisante (Mekkiou, 2005).

**I-4- *Prasum majus***

➤ **Description botanique**

C'est une plante appartenant à la famille des Lamiacées peuvent atteindre jusqu'à 1,5 m de longueur, localement connue sous le nom de « Naánaa Ebbabúch » en Algérie. Les feuilles opposées, ovales et obtus, les fleurs blanchâtes. D'origine méditerranéenne (Figure19) (Bammi et Douira ,2002).



**Figure 19** : Photo de *Prasuim majus* (Bammi et Douira ,2002)

➤ **Position systématique**

Le tableau ci-dessous montre la classification de *Prasuim majus*

**Tableau V** : Classification taxonomique de *Prasuim majus* (Quézel et Santa, 1963)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Prasium</i>
Espèce	<i>Prasuim majus</i>

➤ **Propriétés thérapeutique**

Les feuilles, en infusion, agissent contre les maux de la vésicule biliaire. En décoction, elles sont réputées comme digestives et calmantes (Bammi et Douira ,2002)

## **II-1-Matériel végétal**

Nous avons choisi comme matériel végétal les parties aériennes de nos quatre plantes médicinales locales, ce sont les feuilles ont fait l'objet comme matériel de cette étude.

## **II-2-Méthodes**

### **II-2-1-Récolte des plantes**

Les quatre plantes ont été récoltées dans le Parc National de Gouraya de la Wilaya de Bejaia, durant le mois de mars 2012. La récolte à été faite par madame Lounis.

### **II-2-2-Préparation des extraits**

#### **II-2-2-1-Séchage et Broyage**

Les feuilles des plantes ont été séchées dans un endroit sec, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après séchage, les feuilles de ces plantes ont été par la suite broyées, à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

#### **II-2-2-2- Préparation des extraits aqueux**

La méthode d'extraction utilisée dans cette étude est celle adoptée par **Jouad et ses collaborateurs (2002)**, qui consiste en une décoction. Les extraits de feuilles des plantes ont été préparés comme suite : 5g de la poudre sèche des feuilles ont été bouillis à 100 °C dans 100 ml d'eau distillée pendant 15 minutes. L'extrait aqueux a été filtré à l'aide d'un papier filtre de type WATMAN. Le filtrat obtenu a été séché à l'air libre et l'abri de la lumière.

Le taux d'extraction a été calculé par la formule ci-dessous :

$$\text{Taux de la matière extraite} = [(P_1 - P_0) / E] \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : Poids de la boîte de pétri et de l'extrait après évaporation (g)

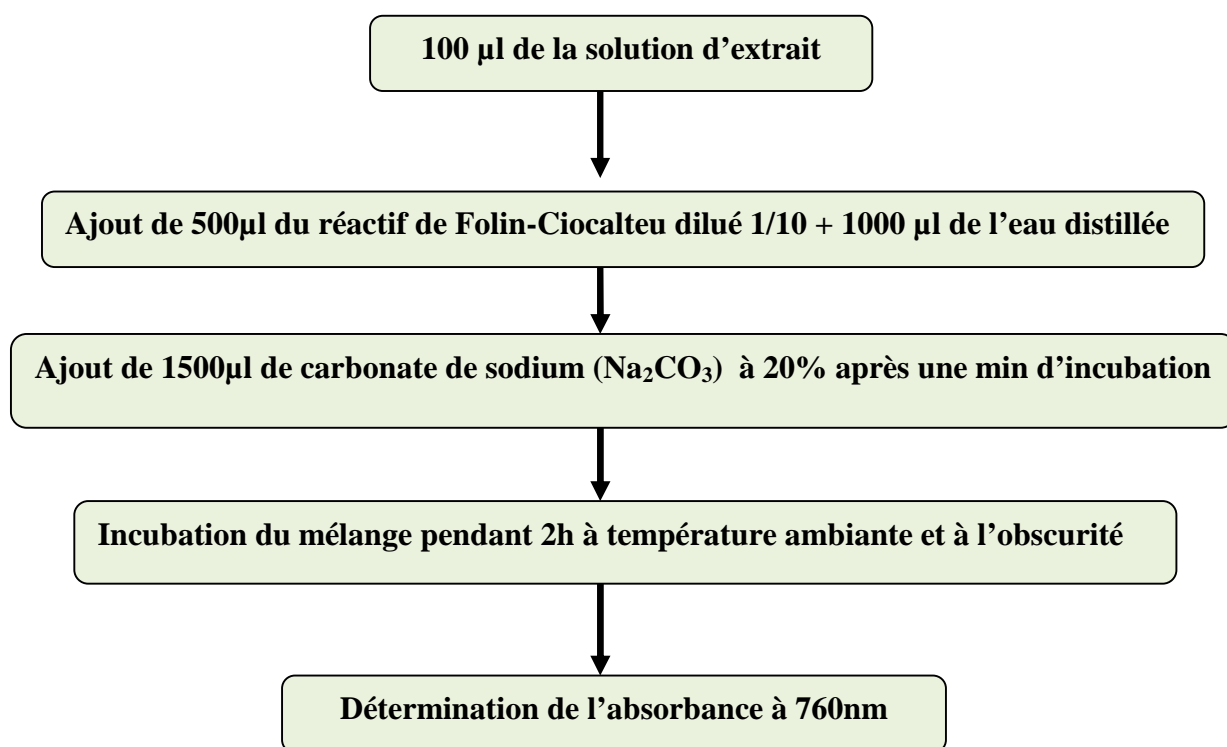
**P<sub>0</sub>** : Poids vide de la boîte de pétri (g)

**E** : Poids de la poudre initiale (g)

## II-2-3-Dosages des composés phénoliques

### II-2-3-1- Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué selon la méthode citée par **Djeridane et al. (2006)**. Le principe repose sur l'interaction des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (**Ribereau-Gayon 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Le protocole expérimental est illustré dans la figure suivante:



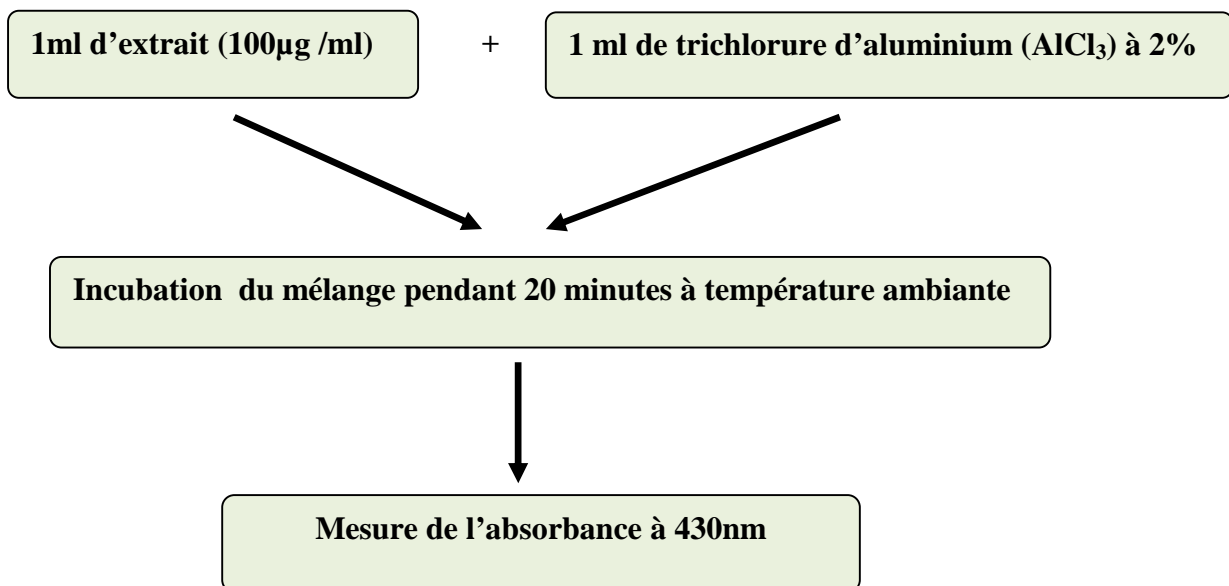
**Figure 20:** Protocole de dosage des phénols totaux (**Djeridane et al., 2006**)

Une courbe d'étalonnage à l'acide gallique (Annexe 1) a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les extraits. Le contenu en phénols totaux a été exprimé en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

### II-2-3-2-Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) citée par **Djeridane et al. (2007)** a été réalisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits.

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $\text{Al}^{3+}$ . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**). Le protocole expérimental est schématisé dans la figure suivante :



**Figure 21** : Protocole de dosage des flavonoïdes (**Djeridane et al., 2007**)

Une courbe d'étalonnage (Annexe 2) a été réalisée avec une solution standard de rutine, à différentes concentrations, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent rutine par gramme d'extrait.

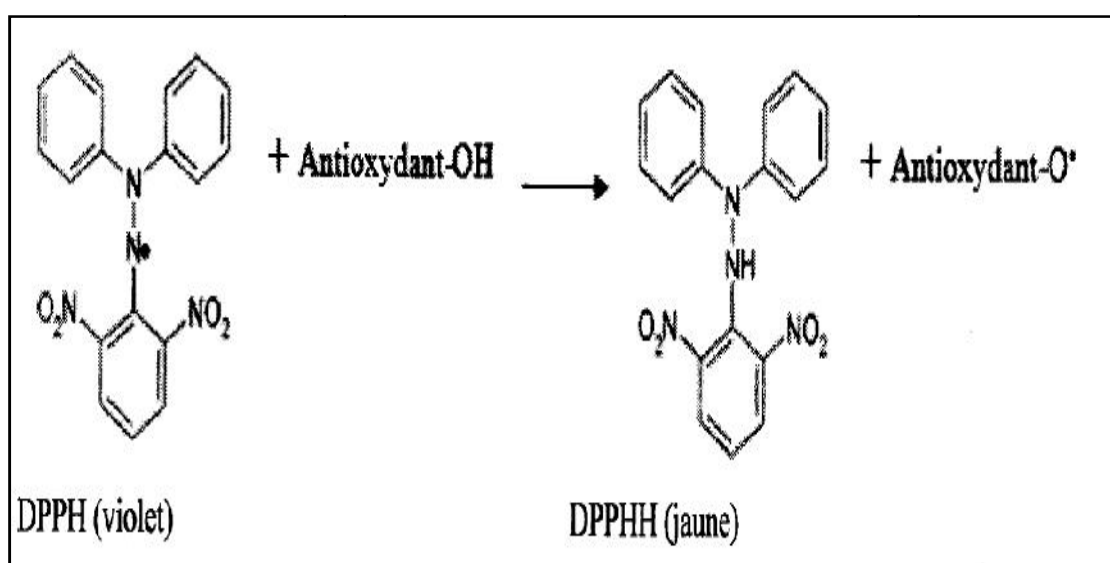


## II-2-4-Evaluation de l'activité antioxydante

### II-2-4-1-Activité scavenging du radical DPPH

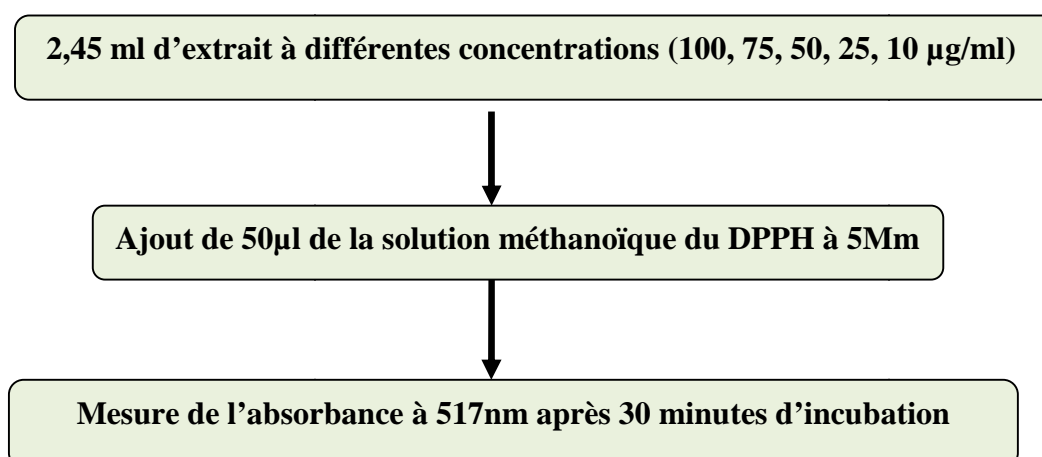
Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons utilisé le test au DPPH selon le protocole décrit par (Masuda *et al.*, 1999) in (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

Le DPPH (2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl), radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazine) en présence de composés anti-radicalaires (Figure 22) (Kouamé *et al.*, 2009). L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire des composés.



**Figure 22:** Structure chimique de forme libre et réduite du DPPH (Kouamé *et al.*, 2009)

Le protocole expérimental est schématisé dans la figure suivante :



**Figure 23 :** Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode du DPPH (Masuda *et al.*, 1999)

L'activité anti radicalaire a été estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ scavenging du radical DPPH} = [A_0 - (A_1 - A_S) / A_0] \times 100$$

$A_0$  : L'absorbance de la solution contrôle (contient seulement le DPPH).

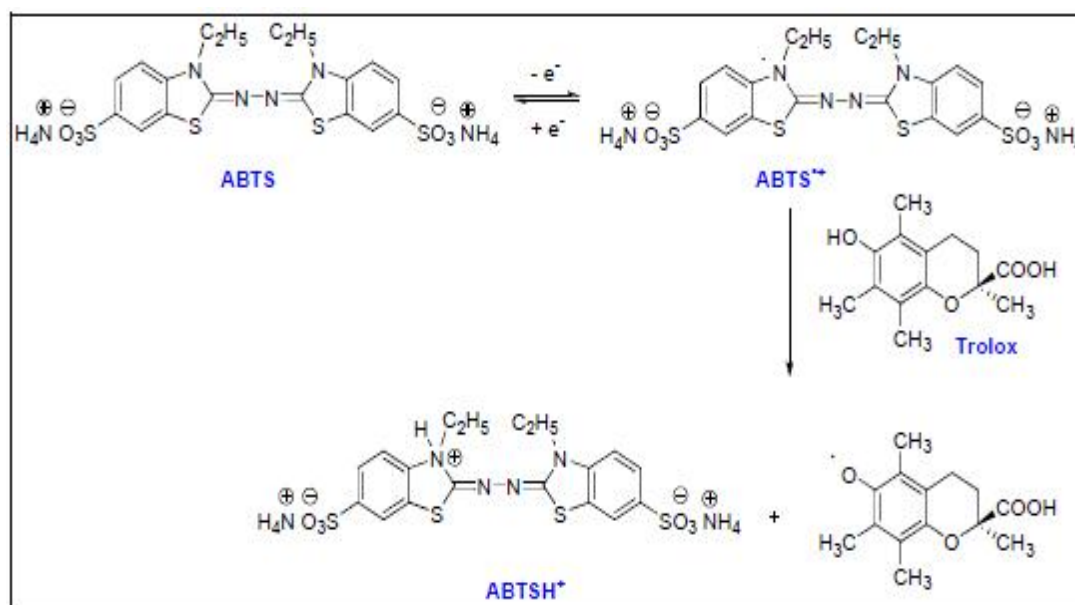
$A_1$  : L'absorbance du DPPH + extrait.

$A_S$  : L'absorbance de l'extrait sans DPPH.

### I-2- 4-2-Activité scavenging du radical ABTS<sup>•+</sup>

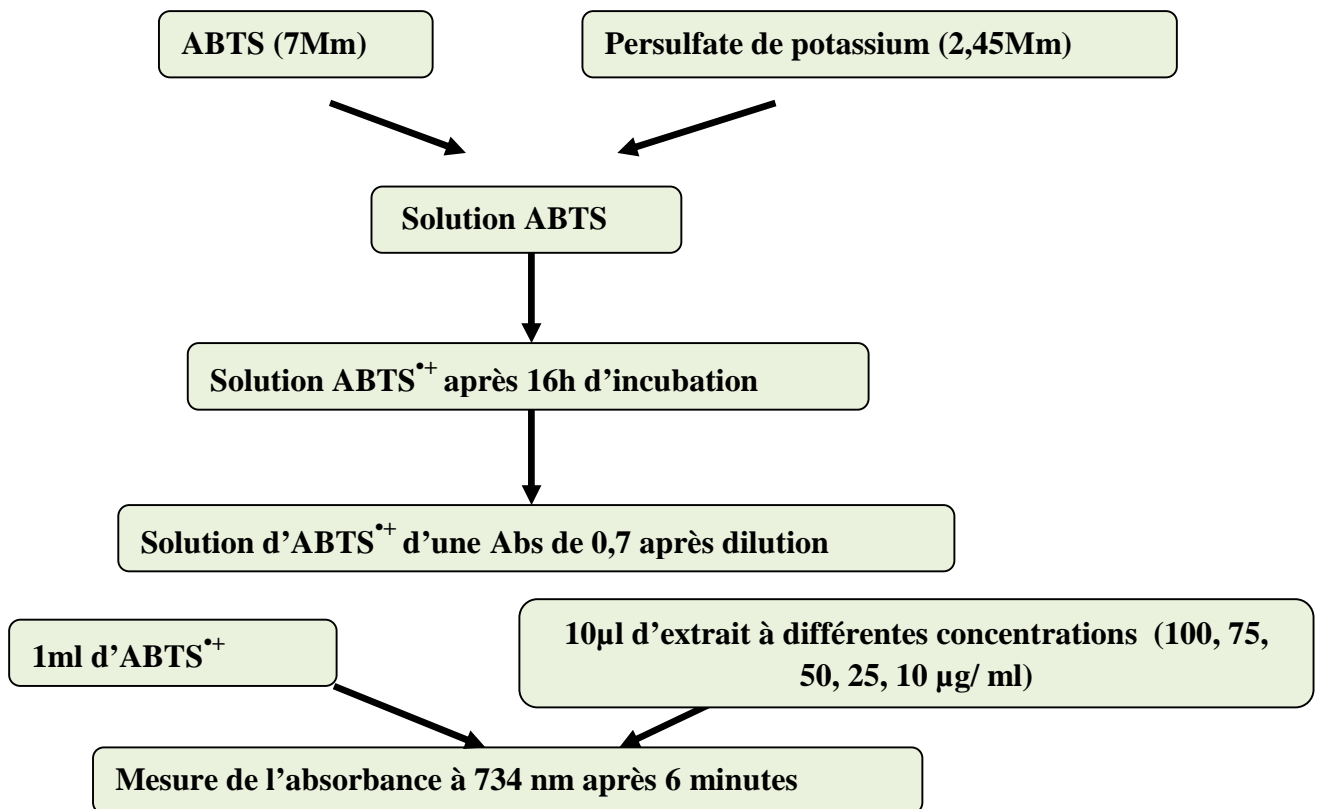
Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS<sup>•+</sup>, selon le protocole décrit par **Ré et ses collaborateurs (1999)**.

Le radical est formé par oxydation de l'ABTS [sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique)] avec le persulfate de potassium. Le radical ABTS<sup>•+</sup>, en contact avec un donneur de H<sup>•</sup> conduit à l'ABTS<sup>•</sup> (Figure 24) et à la décoloration de la solution (**Marc et al., 2004**).



**Figure 24** : Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H<sup>•</sup> (**Marc et al., 2004**)

Le protocole expérimental est schématisé dans la figure suivante :



**Figure 25:** Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode du l'ABTS<sup>•+</sup> (Ré et *al.*, 1999)

Le pourcentage de l'activité scavenging de l'ABTS<sup>•+</sup> à été calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ scavenging de l'ABTS}^{\bullet+} = [(A_{\text{con}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{con}}] \times 100$$

$A_{\text{con}}$  : Absorbance de la solution contrôle (ABTS<sup>•+</sup> sans extrait).

$A_{\text{test}}$  : Absorbance de l'échantillon (ABTS<sup>•+</sup> en présence de l'extrait).

# *Résultats et Discussions*

### III-1-Extraction des extraits aqueux

L'extraction est une étape importante pour l'isolement, identification et la quantification des composés phénoliques. Dans notre travail, ces composés issus de différentes plantes sont extraits par décoction. Les rendements en pourcentage d'extrait sec sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau VI** : Le rendement d'extraction des extraits aqueux des quatre plantes

Nom de la plante	Taux d'extraction des feuilles des plantes en %
<i>Salvia officinalis</i>	7,57
<i>Genista ferox</i>	8,26
<i>Rhamnus alaternus</i>	14,27
<i>Prasium majus</i>	16,28

Les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, montrent que les extraits ont donné un meilleur taux d'extraction chez les extraits de *Prasium majus* et *Rhamnus alaternus* de 16,28 % et 14,27% respectivement, qui sont presque deux fois plus grand que ceux de *Genista ferox* 8,26% et *Salvia officinalis* 7,57%.

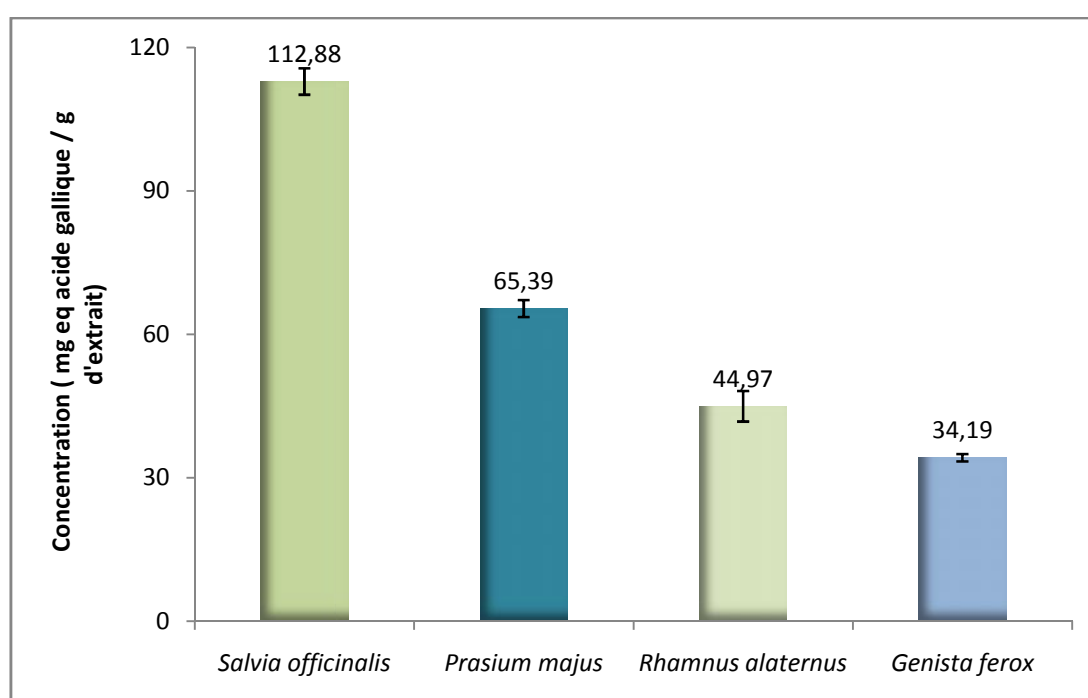
La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Mahmoudi et al., 2012).

### III-2- Quantification des composés phénoliques

L'étude quantitative des extraits au moyen des dosages spectrophotométriques, a pour objectif la détermination de la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes.

#### III-2-1-Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 26 :** Teneurs en phénols totaux des extraits aqueux des feuilles des plantes étudiées.

D'après ces résultats, on constate que la teneur la plus élevée en phénols totaux est enregistrée chez *Salvia officinalis* de 112,88 mg Eq AG/g d'extrait, suivi de *Prasium majus* qui montre un taux de 65,39 mg Eq AG/g d'extrait, ensuite on retrouve *Rhamnus alaternus* et *Genista ferox* avec des teneurs proche de 44,97 et 34,19 mg Eq AG/g d'extrait, respectivement.

Une étude réalisée par Djaridane et *al.* (2007) sur plusieurs genres de plantes médicinales parmi elles : *Rhamnus alaternus*, avec une extraction à base de l'eau-éthanol (80%), ont déterminé une faible teneur en phénols totaux de 6mg Eq AG/ g d'extrait.

D'après les résultats d'Alain et *al.* (2011) sur la même famille de *Genista ferox* : *Disthemonanthus benthamianus* avec une extraction à base de méthanol (96%), ont révélé une valeur plus élevée de 70,17 mg Eq AG/g d'extrait.

Très peu de travaux ont été publiés sur les teneurs en phénols totaux de *Prasium majus*. Une extraction au méthanol/ eau (80 :20, v : v) réalisée par Chaouche et *al.* (2013), ont démontré une teneur en phénols totaux de 64,55 mg Eq AG/g d'extrait.

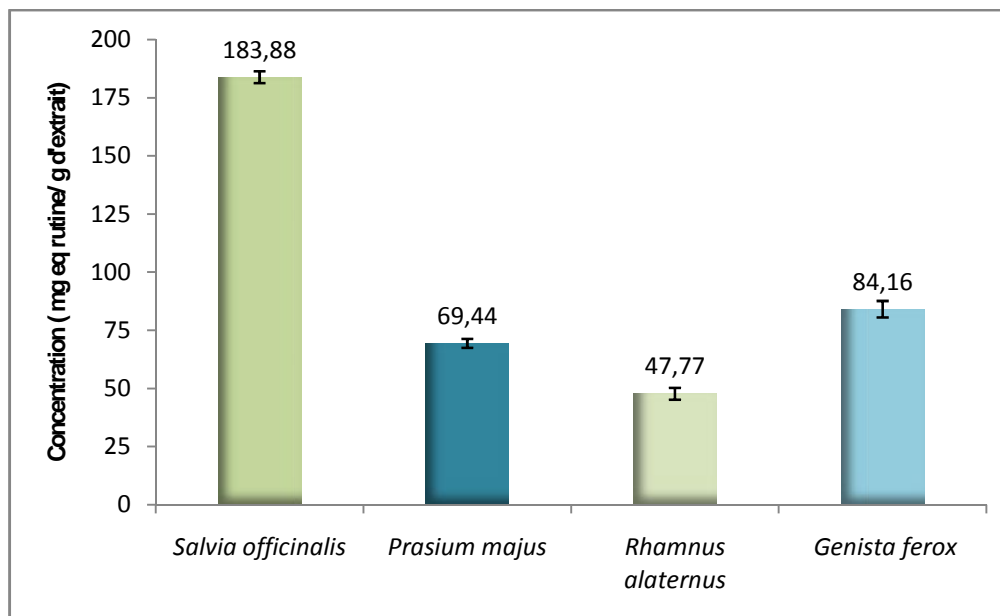
D'après ces travaux, on remarque que les valeurs obtenues dans la présente étude sont différentes aux résultats obtenus en littérature. Le contenu en polyphénols varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs (**Bouزيد et al., 2011**) :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies.
- ✓ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante.
- ✓ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

Selon Mahmoudi et *al.* (2012), la macération par l'éthanol est la meilleure technique d'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes alors que la décoction aqueuse est préférable pour l'extraction des tanins condensés. Cette différence peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions.

### III-2-2- Dosage des flavonoïdes

La teneur des extraits en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage, utilisant la rutine comme standard. Les résultats sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 27:** Teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux des feuilles des plantes étudiées.

Ces résultats indiquent que *Salvia officinalis* présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes qui est de 183,88 mg Eq rutine/ g d'extract par rapport à celle de *Rhamnus alaternus*, qui présente la plus faible teneur avec 47,77 mg Eq rutine /g d'extract. Quant aux *Genista ferox* et *Prasium majus* présentent des teneurs de 84,16 et 69,44 mg Eq rutine /g d'extract, respectivement.

Une étude menée par Dragan et al. (2007), qui ont utilisé la macération dans l'eau, ont révélé que *salvia officinalis* est riche en flavonoïdes de type flavone. Tandis que, les résultats obtenus par Mekkiou (2005), qui a utilisé une macération dans un mélange éthanol-eau (70 :30 ; v/v), concernant l'espèce *Genista ferox* a démontré la richesse de cette espèce en flavonoïdes de type flavone et isoflavone.

Djaridane et ses collaborateurs (2007) ont utilisé une extraction à base de l'eau/éthanol (80%), ils ont révélé que *Rhamnus alaternus* contient une teneur élevée de 100 mg Eq quercétine / g d'extract.



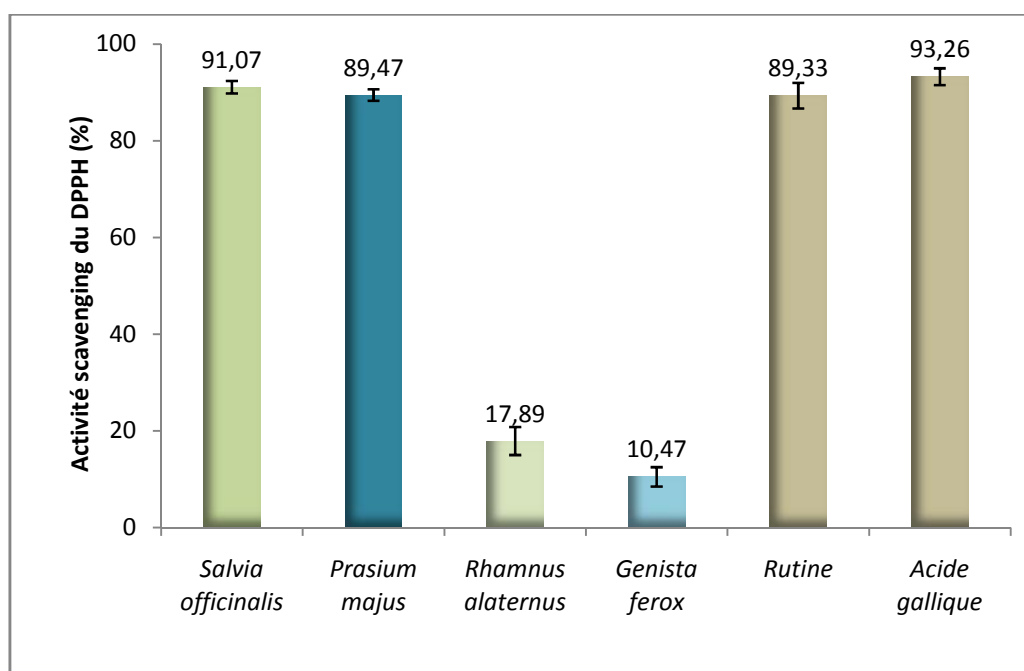
En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol reste le meilleur extracteur des flavonoïdes. L'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique (Mahmoudi et al., 2012).

### III-3-Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits aqueux de quatre plantes a été déterminée selon deux méthodes : DPPH et l'ABTS<sup>•+</sup>.

#### III-3-1- Activité scavenging du radical DPPH

La figure suivante illustre le pourcentage scavenging du radical DPPH des antioxydants standards et les extraits à 100µg / ml.



**Figure 28 :** Résultats de l'activité scavenging du DPPH des extraits aqueux et les standards à 100µg/ml

D'après les résultats rapportés dans la figure 28, on remarque deux catégories de plantes. La première regroupe les plantes ayant une forte activité anti-radicalaire supérieure à 50%, il s'agit de *Salvia officinalis* 91,07% et de *Prasium majus* 89,47%. La deuxième est celle des plantes *Rhamnus alaternus* et *Genista ferox*, qui présentent une activité anti-radicalaire faible de 17,89 % et 10,47%, respectivement.

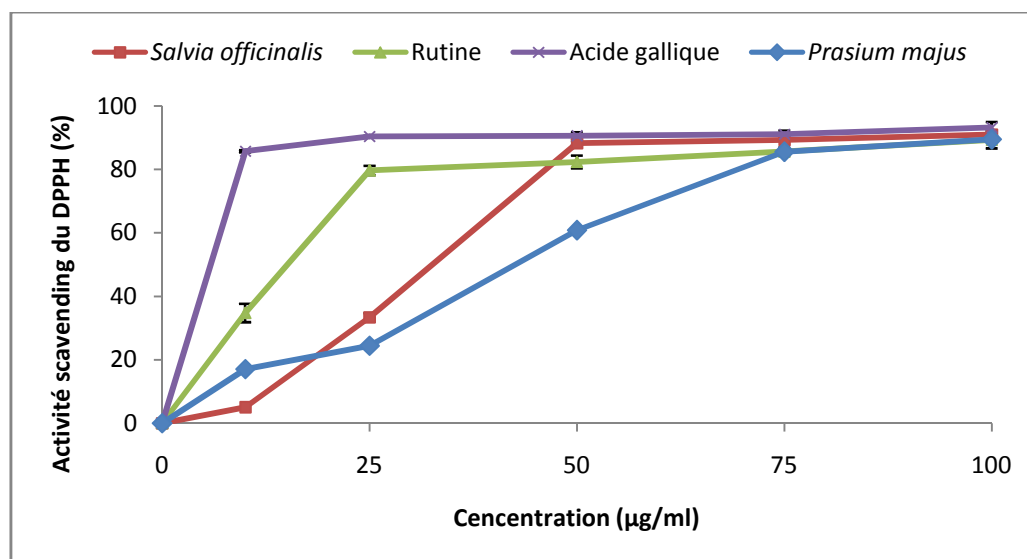
La meilleure activité est observée chez *Salvia officinalis* 91,07% suivi par *Prasium majus* 89,47%, qui sont comparable à celle de deux molécules de références, l'acide gallique et la rutine avec 93,26% et 89,33%, respectivement.

Une étude effectuée par Alain *et al.* (2011) sur la même famille de *Genista ferox* : *Disthemonanthus benthamianus* ont montré une forte activité à piéger le radical DPPH. Par ailleurs, l'étude de Rebai *et al.* (2009) sur *Rhamnus alaternus* ont trouvé aussi une forte capacité à piéger le radical DPPH, ces activités sont supérieures à la présente étude.

D'après cette concordance, la capacité antioxydante des extraits peut être attribuée à la nature de composés phénoliques, dépend essentiellement du nombre des groupements hydroxyles, leur position, et les radicaux liés au squelette moléculaire (Mahmoudi *et al.*, 2012).

### III-3-1-1- Activité scavenging à différentes concentrations

Les extraits ayant exprimés des effets puissants (>50%) ainsi que les standards ont été testés à différentes concentrations (10, 25, 50,75 et 100 µg/ml), dans le but d'exprimer les résultats en terme d'IC<sub>50</sub>. Les résultats sont exprimés dans la figure suivante :



**Figure 29** : Activité scavenging du DPPH des extraits aqueux et les standards à différentes concentrations

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'activité anti-radicalaire augmente en fonction de la concentration soit pour les extraits ou pour les standards jusqu'à 100µg/ml.

Pour les standards utilisés, l'activité anti-radicalaire de rutine augmente rapidement jusqu'à 25µg/ml et au-delà de cette concentration, on observe une stabilité de l'activité jusqu'à 100µg/ml. Cependant, l'acide gallique présente une augmentation importante de l'activité jusqu'à 10 µg/ml, puis on remarque une augmentation légère jusqu'à 25 µg/ml, au delà de cette concentration l'activité est stable.

Pour les extraits, l'activité augmente légèrement jusqu'à 25 µg/ml chez *Prasium majus*, puis on remarque une augmentation très importante jusqu'à 100 µg /ml. Par contre, chez *Salvia officinalis*, l'activité augmente rapidement jusqu'à 50 µg /ml, puis une stabilité à 100 µg /ml.

### III-3-1-2- Détermination de l'IC<sub>50</sub>

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Laib et Barkat, 2011**). Le tableau suivant regroupe les valeurs des IC<sub>50</sub> des standards ainsi les extraits.

**Tableau VII:** Valeurs des IC<sub>50</sub> de DPPH des standards et les extraits.

Extraits	IC <sub>50</sub> (µg / ml)
<i>Salvia officinalis</i>	33
<i>Prasium majus</i>	43
Rutine	16
Acide gallique	6

Les valeurs IC<sub>50</sub> varient significativement de 6 à 43 µg/ml. L'extrait aqueux de *Prasium majus* présente une IC<sub>50</sub> la plus élevée de 43 µg/ml, suivi de *Salvia officinalis* avec 33 µg/ml. En comparaisant avec les antioxydants standards, tous les extraits testés s'avèrent moins actifs.

### III-3-1-3-Corrélation

Une relation a été établie entre la teneur en composés phénoliques des différents extraits des plantes et leurs activités scavenging contre le radical DPPH, les résultats sont montrés dans le tableau suivant :

**Tableau VIII** : Indice de corrélation entre les composées phénoliques et leurs activités scavenging du radical DPPH.

Composée phénoliques	Coefficient de corrélation (r)
Phénols totaux	0,84
Flavonoïdes	0,57

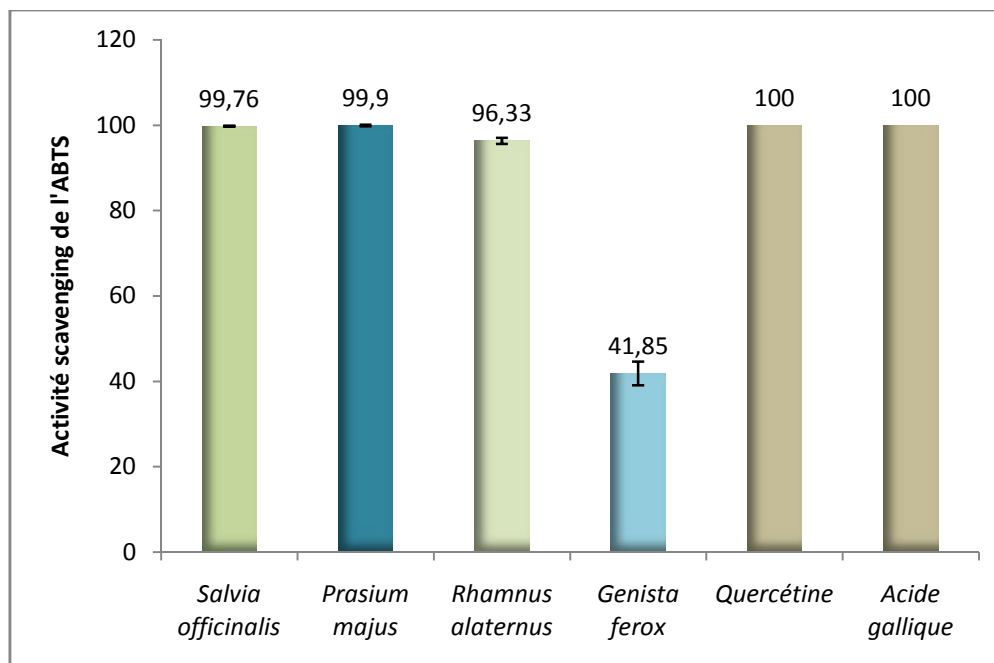
Il existe une bonne corrélation linéaire forte ( $r = 0,84$ ) entre la teneur en phénols totaux et le pouvoir anti-radicalaire des différents extraits, et une corrélation moyenne pour les flavonoïdes ( $r = 0,57$ ). Cette activité est due majoritairement à la présence des phénols totaux.

L'activité antioxydante proviendrait principalement des phénols totaux semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale (Athamena et al., 2010). On suggère que l'activité des extraits ne dépend pas de la richesse en flavonoïdes, mais de leur structure chimique. Plusieurs études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres.

Rebai et ses collaborateurs (2009), ont étudié l'activité scavenging du radical DPPH de trois types de flavonoïdes (kaempferol 3-O-isorhamninoside, rhamnocitrin-3-O isorhamninoside et rhamnetin-3-O-isorhamninoside) isolés chez *Rhamnus alaternus*, ils ont montré que la relation entre l'activité antioxydante et la structure des flavonoïdes dépend de la substitution de groupement OH sur les différents cycles (A, B, et C).

### III-3-2-Réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>

Les résultats de test de l'activité scavenging du radical ABTS<sup>•+</sup> des extraits et les standards à 100 µg/ml sont illustrés dans la figure suivante :

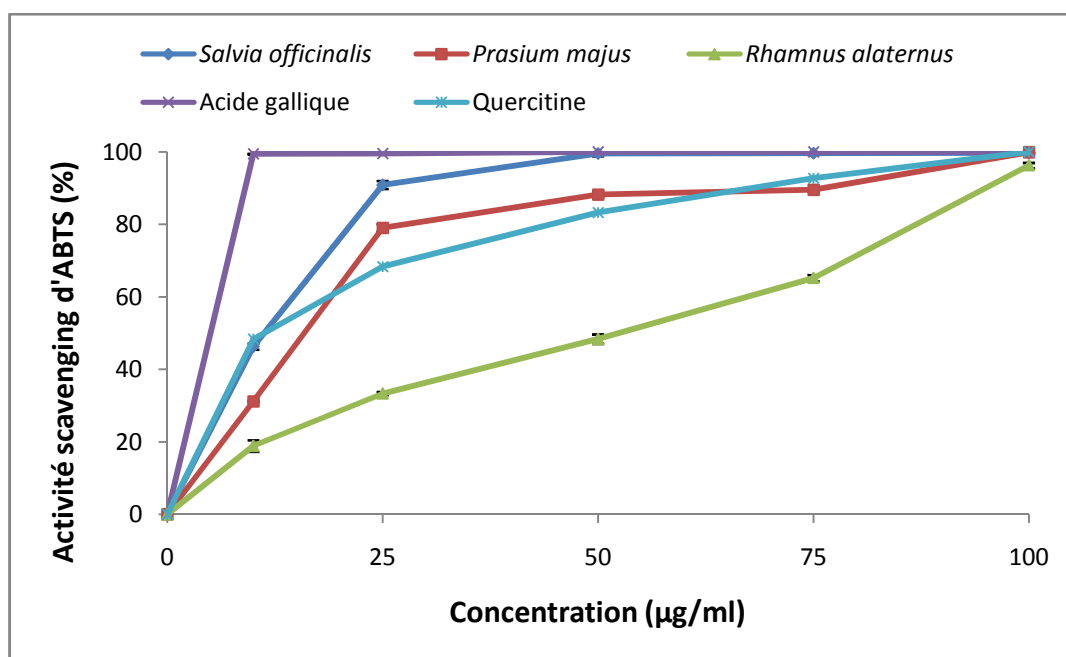


**Figure 30 :** Résultats de l'activité scavenging de radical ABTS<sup>•+</sup> des extraits aqueux et les standards à 100 µg/ml

D'après ces résultats, on constate que tous les extraits, *Salvia officinalis*, *Prasium majus* et *Rhamnus alaternus* présentent une très bonne activité inhibitrice contre le radical ABTS<sup>•+</sup>, similaires à celle de la quercétine et l'acide gallique, à l'exception de l'extrait *Genista ferox* qui exhibe une faible activité avec 41,85%.

#### III-3-2-1- Activité scavenging à différentes concentrations

Les extraits ainsi les standards ayant exprimés des effets puissants (>50%), ont été testés à différentes concentrations (10, 25, 50,75 et 100 µg/ml), dans le but d'exprimer les résultats en terme d'IC<sub>50</sub>.



**Figure 31 :** Effet scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup> des extraits aqueux et les standards à différentes concentrations

Les courbes obtenues ont enregistré des activités scavenging proportionnelles aux concentrations ; plus la concentration augmente plus l'effet scavenging augmente.

Quant aux molécules de références, l'activité anti-ABTS<sup>•+</sup> de l'acide gallique est maximale et se stabilise au-delà de 10 µg/ml. Tandis que, l'activité de la quercétine augmente légèrement selon les concentrations.

Pour les extraits, une augmentation importante jusqu'à 25 µg/ml chez *Salvia officinalis* et *Prasium majus*, mais au-delà de cette concentration, l'activité augmente légèrement.

Concernant *Rhamnus alaternus*, on remarque une augmentation proportionnelle en fonction de la concentration jusqu'à atteindre une valeur de 96,33% comparable à celle des autres extraits. D'après ces résultats on constate que l'activité des extraits est dépendante de la concentration.

### III-3-2-2- Détermination de l'IC<sub>50</sub>

Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> des standards et les extraits sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau IX:** Valeurs de l'IC<sub>50</sub> de l'ABTS des standards et les extraits.

Extraits	IC <sub>50</sub> (µg / ml)
<i>Salvia officinalis</i>	11
<i>Prasium majus</i>	16
<i>Rhamnus alaternus</i>	52
Acide gallique	5
Quercétine	11

Le potentiel antioxydant le plus important est celui de l'acide gallique. Pour *Salvia officinalis*, l'extrait a montré une bonne activité avec IC<sub>50</sub> de 11 µg/ml, qui est supérieur à celle de *Prasium majus* dont l'IC<sub>50</sub> est 16 µg/ml. L'activité la plus faible a été exercée chez *Rhamnus alaternus*. En comparant à celle des standards, *Salvia officinalis* montre la même activité de celle de la quercétine malgré la diminution de sa concentration.

### III-3-2-3-Corrélation

**Tableau X :** Indice de corrélation entre les composées phénoliques et leurs activités scavenging du radical ABTS<sup>•+</sup>

Composée phénoliques	Coefficient corrélation (r)
Phénols totaux	0,60
Flavonoïdes	0,16

D'après le tableau ci-dessus, on constate qu'il ya une très faible corrélation entre le contenu en flavonoïdes des extraits et l'activité anti-radicalaire (r = 0,16), tandis que, une moyenne corrélation est observée entre la teneur des extraits en phénols totaux et l'activité anti-radicalaire (r = 0,60). Ces résultats obtenus sont liés directement à la diversité qualitative des composés présents dans les extraits.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Athamena et al., 2010).



# *CONCLUSION ET PERSPECTIVES*



### Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Notre travail qui est une contribution à l'étude de la phytochimie et l'activité anti-radicalaire des extraits de feuilles de quatre plantes, nous a permis de comprendre que le domaine des plantes demeure encore un domaine valable de recherche scientifique.

Le dosage des composés phénoliques contenus dans les quatre extraits aqueux a révélé des teneurs considérables en polyphénols avec des quantités appréciables en flavonoïdes.

L'étude de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH et l'ABTS<sup>•+</sup> a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les composés phénoliques à piéger les radicaux libres. Suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons prédire que ces composés sont plutôt des agents antioxydants.

Les résultats du test au DPPH ont révélé que les extraits du *Salvia officinalis* et *Prasium majus* présentent des activités anti-radicalaires très importantes de 91,07%, 89,47% ; tandis que, le test d'ABTS<sup>•+</sup> montre une bonne activité anti-radicalaire pour *Salvia officinalis* 99,76%, *Prasium majus* 99,90% et *Rhamnus alaternus* 96,33%. Ces résultats obtenus sont liés directement à la diversité quantitative et/ou qualitative des composés présents dans ces extraits.

Cette étude montre que les feuilles des plantes étudiées peuvent être considérées comme une source d'antioxydants naturels pour l'utilisation médicinale.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à mettre à la disposition de la population des médicaments à base de plantes médicinales efficaces et accessibles. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

# *Références Bibliographiques*

*Références bibliographiques*

*A*

- ❖ Afonso, V., Champy, R., Mestrovic, D., Collin, P., et Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*. **74** :636–643.
- ❖ Alain, P.B., Banga, B., Guessan, N., Adou, F., YAPO, Jean- David, N., et Allico, J.D. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature* **8** (1): 1 – 11.
- ❖ Alan, L., et Miller, N.D. (1996). Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage. *Alternative Medicine Review*. **1**(2) :103-111.
- ❖ Arthur, J .R. (2000). *The glutathione peroxidases*. *Cell Mol Life Sci*, **57**, pp18-25-35.
- ❖ Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., et Khebri, S. (2010). Activite anti-oxydant et antimicrobienne d'extrait de *CUMINUM CYMINUM* L. *Lebanese Science Journal*. **11**(1).69-81.
- ❖ Aufrere, J., Thodoridou, K., et Baumont, R. (2012). Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés. *INRA Prod. Anim.* **25**(1) : 29-44.

*B*

- ❖ Bammi, J., et Douira, A. (2002). Les plantes médicinales dans le foret de l'achach (Plateau central, MAROC). *Acta Botanica Malacitana*. **27**: 131-145.
- ❖ Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement : médecine sciences. **22** (3), p. 266-272.

- ❖ **Beaudeau, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., et Peynet, J. (2006).** Oxidative stress in the atherosclerotic process. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **21**:144–150.
- ❖ **Beloued, A. (2009).** Plantes médicinales d'Algérie, 5<sup>ème</sup> édition, office des publications universitaires. Alger, pp142-196.
- ❖ **Bérubé, R., Malenfant, J., Gauvin, D., Biais, M., Gagnon, E., Dumas, R., Racine, M.C., Bourque, J., et Bélanger, A. (2000).** Quantitation of androgenic and estrogenic steroids in rat and monkey sérum using gas chromatography and négative chemical ionization mass spectrometry. Proc 48th ASMS Conférence on Mass Spec-trometry and Allied Topics, Long Beach, CA, p 605.
- ❖ **Bouزيد, W., Yahia1, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C., et Ayachi, A. (2011).** evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *L'AUBEPINE MONOGYNE*. *Lebanese Science Journal*. **12** (1).
- ❖ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier 3ème Edition, pp 200-225.

## C

- ❖ **Chaouche, T., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., El-Haci , I.A., Boucherit , Z.,Sekkal, F.Z., et Atik-Bekara, F. (2013).** Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of phenolic extract of *Prasium majus* L .Free Radicals and Antioxidants xxx: 1-4.
- ❖ **Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C., et Teissèdre, P.L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* **6**: 75–82.
- ❖ **Colin, J.P. (2008).** Le vieillissement : Perspectives écologiques envisageables. Les Âges et la Mort, c. 1540-1543.
- ❖ **Cuvelier, C., Dotreppe, O., et Istasse, L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.* **147** : 315-324.

*D*

- ❖ **D'Archivio, M., Filesi, C., De Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* **43**(04):348-361.
  
- ❖ **Delattre, J., Beaudoux, J.L., et Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 1 - 405.
  
- ❖ **Derbel, S., et Ghedira, K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie 1*: 28-34.
  
- ❖ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., et Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* **97**: 654-660.
  
- ❖ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.L., et Stocker. (2007).** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol.* **224**: 801–809.
  
- ❖ **Dragan, T.V., Milena, T.N., Stephanie, V.I., A., Jelena, B.S., I., et Vlada, B.V. (2007).** Extraction of flavonoids from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage by ultrasonic and classical maceration *J. Serb. Chem. Soc.* **72** (1) 73–80.
  
- ❖ **Durand, T., Cracowski, J.L., et Berdeaux, O. (2005).** Isoprostanes, biomarkers of lipid peroxidation in humans. Part 1. Nomenclature and synthesis. *Pathologie Biologie* **53** : 349–355.

*F*

- ❖ **Fabien, J. Z. (2002).** Oxidative stress during acute inflammatory and critical states: implications for clinical practice *Nutrition clinique et métabolisme.* **16** : 268–274.

- ❖ **Fabrice, R., Bebin, K., Garrau, J.M., Gueriot, J.F., Foret, R., Brack, M., et Garrel, C. (2009).** Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. *Journées Recherche Porcine*, **41**, 173-178.
- ❖ **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant-Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 - 115.
- ❖ **Finkel, T., et Holbrook, N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **408**, 239-247.

*G*

- ❖ **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie Numéro 4*: 162-169.
- ❖ **Goudable, J., et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol*, **11**:115 - 120.

*H*

- ❖ **Haslam, E., et Cari, Y. (1994).** Plant polyphenols (Vegetable Tannins): Gallic Acid Metabolism, *Nat .pro. Rep*, **11**, 41-66.

*J*

- ❖ **Jouad, H., Maghrani, M., et Eddouks, M. (2002).** Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **81**:351-6.

*K*

- ❖ **Kelly, E., Heim, Anthony, R., Tagliaferro, Dennis, J., et Bobilya. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* **13**:572–584.

- ❖ **Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I.P., Simporé, J., et Nikiéma, J.B. (2009).** Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). **32** (1) et (2) :9-23.

*ℒ*

- ❖ **Lacan, B. D. (2001).** Oxydants /Antioxydants : un équilibre important. Pp : 1-5.
- ❖ **Laguerre, M., Lecomte, J., et Villeneuve, P. (2007).** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*. **46** :244–282.
- ❖ **Laib, I., et Barkat, M. (2011).** Composition chimique et activité antioxydane de l'huile essentielle des fleurs seches de *Lavandula officinalis*. *Agriculture* **2**.

*ℳ*

- ❖ **Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L) *Nature & Technologie*.35-40.
- ❖ **Maisuthisakul, M., Suttajit, M., et Pongsawatmani, R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radicalscavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*. **100**: 1409.1418.
- ❖ **Marc, T., Gerard, W., et Denis, L. (2001).** Classification des anti-inflammatoires *in* Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels para médicaux. 4ème Edition.426P.
- ❖ **Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., et Fritsch, P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S* **4** (20) : 458-63.

- ❖ **Martin, S., et Andriantsitohaina, R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* **51** : 304–315.
- ❖ **Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., et Nakata, M. (1999).** Evaluation of the antioxidant of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem.* **47**:1749–1754.
- ❖ **Mehinagic, E., Bourles, E., et Jourjon, F. (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture I.* **43** (6): 364–368.
- ❖ **Mekkiou, R. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de doctorat. pp : 78-79. Constantine.
- ❖ **Moffarts, B., Kirschvink, N., et Lekeux, P. (2004).** Evaluation et correction du stress oxydant. In: 21<sup>de</sup> Studiedag van de / 21<sup>ème</sup> Journée d'étude de la Belgian Equine Practitioners Society – BEPS, BEPS (Ed).

*N*

- ❖ **Nicholls, P. (2012).** Classical catalase: Ancient and modern. P. Nicholls / *Archives of Biochemistry and Biophysics*: 1-6.

*P*

- ❖ **Pawlowska, A.M., De Leo, M., et Braca, A. (2006).** Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **54** (26): 10234-38.
- ❖ **Pincemail, J., et Defraigne, J. (2004).** Les antioxydants, un vaste réseau de défense pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone. 1-2.



- ❖ **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., et Defraigne, J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. **16** : 233–239.
- ❖ **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., et Defraigne, J.O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* **4** (5).
- ❖ **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., et Defraigne, J.O. (1998).** Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *Médi-Sphères*. **73**:29-33.

## Q

- ❖ **Quézel, P., et Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Paris: CNRS, 618-802.

## R

- ❖ **Ré, B., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., et Rice-evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. **26** (9/10), pp. 1231–1237.
- ❖ **Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian le Goff, L., et Hade-Aissouni, L. (2005).** Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* **24** :502–509.
- ❖ **Rebai, B.A., Bhour, W., Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Mariotte, A.N., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, J.M., et Ghedira, K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure- activity relationship study. *Food Chemistry*. **116**: 258–264.

- ❖ **Ribereau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

*S*

- ❖ **Schauenberg, P., et Ferdinand, P. (2010).** Guides des plantes médicinales. Édition Delachaux et Niestlé, Paris, pp 292-293.
- ❖ **Shahidi, F., et Naczk, M. (2003).** "*Antioxidant properties of food phenolics.*" Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, CRC Press: p 403-442.

*V*

- ❖ **Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., et Bordet, R. (2004).** Key players in oxidative stress. *La Lettre du Pharmacologue*, **18** (1) :16-23.

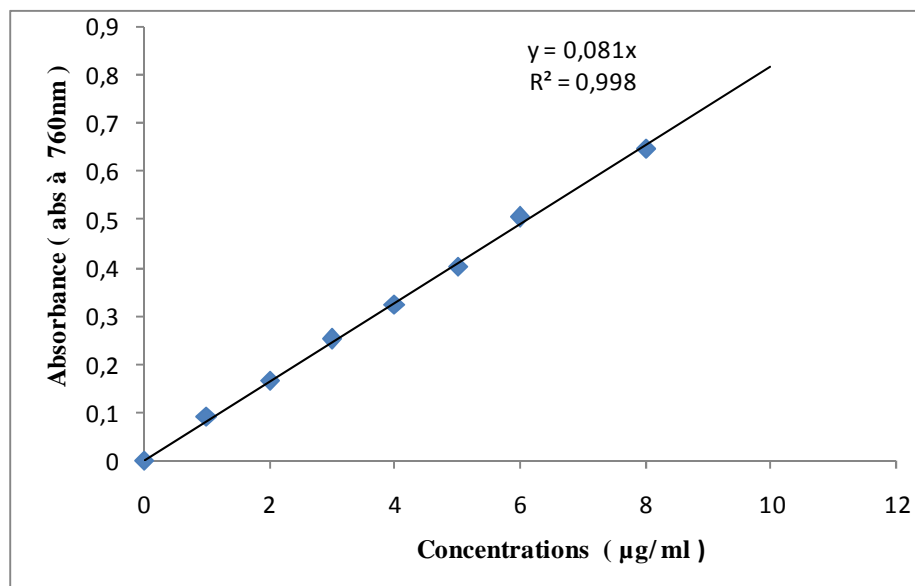
*Y*

- ❖ **Yohan, R. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *OCL*. **11**(6) :419-424.

*Z*

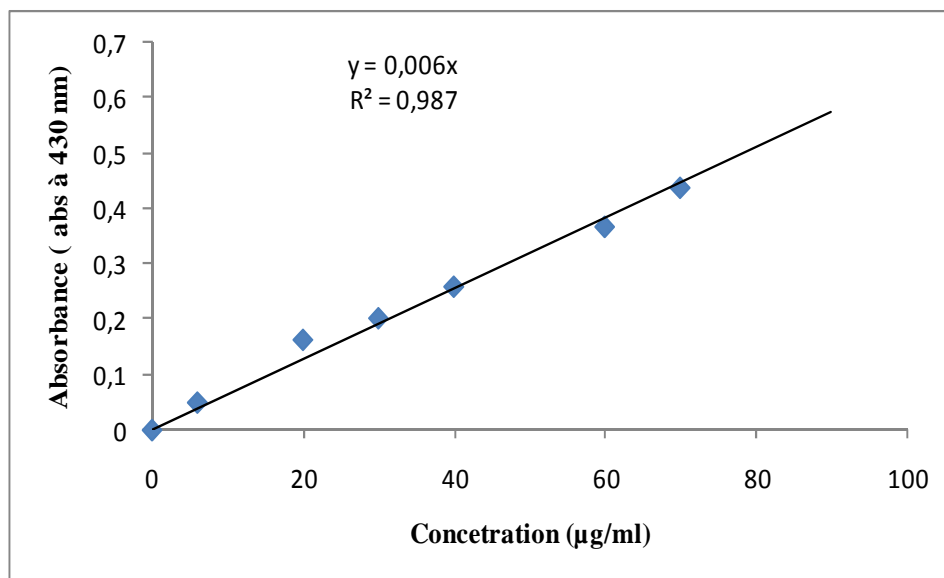
- ❖ **Zimmer, N., et Cordesse, R. (1996).** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA Prod. Anim*, **9** (3), 167-179.

## Annexe 1



La courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

## Annexe 2



La courbe d'étalonnage avec la rutine pour le dosage des flavonoïdes.

*Annexes*

# *Glossaire*

Glossaire

*Termes botaniques*

- ❖ **Aiguillons** : Piquant qui adhère à l'écorce. Il ne faut pas confondre les aiguillons avec les épines ; l'aiguillon ne tient qu'à l'épiderme ; l'épine se continue intérieurement avec le corps ligneux de la tige.
- ❖ **Arbuste** : Il désigne une plante ligneuse d'une taille inférieure à 7 m à tige individualisé et à tronc marqué. Le terme arbuste est souvent considéré comme un synonyme d'arbrisseau (atteint 3 ou 4 m), mais il s'en distingue par la présence d'un tronc bien diversifié. Lorsqu'on a affaire à une plante ligneuse d'une taille inférieure à 50 cm, souvent rampante, on parle de sous-arbrisseau.
- ❖ **Baie** : Fruit charnu à pépins.
- ❖ **Caduc** : Se dit d'un organe, notamment les feuilles, se détachant et tombant chaque année.
- ❖ **Calice** : enveloppe extérieur des fleurs.
- ❖ **Coriaces** : vivace, la plante qui résiste.
- ❖ **Dressées** : La plante qui se mettre droit.
- ❖ **Epi** : Inflorescence (groupe de fleurs) indéfinie simple, effilée et généralement dressée, formée par des fleurs sessiles ou subsessiles très voisines échelonnées autour d'un même axe central et directement fixés sans pédicelles ou avec un pédicelle très court.
- ❖ **Folioles** : du latin *foliolum*, « petite feuille », est une pièce foliaire constituant une des parties du limbe d'une feuille composée. Une foliole a la même structure qu'un limbe.
- ❖ **Glabre** : qualifie une plante ou un organe ne portant pas de poils, de cils, de soies, etc.
- ❖ **Grappes** : Ensemble de fleurs ou de fruits qui poussent sur une même tige.
- ❖ **Herbacées** : Qui est de la nature de l'herbe. Se dit d'une plante non ligneuse (dont la tige n'a pas la consistance du bois).
- ❖ **Lancéolées** : Une feuille lancéolée est de quatre à neuf fois plus longue que large et sa plus grande largeur se situe vers le milieu ou légèrement en dessous.
- ❖ **Obtus** : Se dit d'un angle qui a entre 90 et 180 degrés.
- ❖ **Stipule** : du latin *stipula*, petite tige, appendice membraneux ou foliacé, ou écaille situé à la base du pétiole foliaire et en général présent par paire

*Termes médicaux*

- ❖ **Cicatrisante** : favorisant la cicatrisation, la fermeture d'une plaie.
- ❖ **Fébrifuge** : Qui a la propriété de combattre la fièvre.
- ❖ **Jaunisse** : Affection hépatique qui se traduit par une coloration jaune de la peau.
- ❖ **L'athérosclérose** : L'athérosclérose est une forme d'artériosclérose, dans laquelle des plaques d'athérome se forment au niveau de la couche interne (l'intima) des artères.
- ❖ **L'ischémie cardiaque** : l'ischémie myocardique est due à un déséquilibre entre les apports et les besoins en oxygène du myocarde.
- ❖ **Phytothérapie** : La phytothérapie (*phyto*, plante) désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.
- ❖ **Spasmodiques** : Défini cliniquement comme une dyspnée (ou difficulté à respirer).
- ❖ **Tonique** : Se dit d'une substance accroissant la viabilité de l'individu en augmentant la tonicité et l'énergie des organes. Qui fortifie et stimule les forces de l'organisme.
- ❖ **Vulnérable** : Qualifie des remèdes considérés comme plus particulièrement propres à guérir les plaies.