

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderahmane Mira de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Laboratoire de Biomathématiques, Biochimie, Biophysique et de Scientométries

# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

En Sciences Alimentaires

Option : Sciences Alimentaires

Présenté par :  
Melle MEKHOUKHE AIDA

## Thème

*Etude de certaines activités biologiques des  
composés phénoliques extraits de cinq  
plantes médicinales de la région de Bejaia*

Devant le jury :

Président MAKHLOUFI L.

(Pr., Université de Bejaia)

Promoteur CHIBANE M.

(Pr., Université de Bejaia)

Co-promoteur MADANI K.

(M.C. Université de Bejaia)

Examineurs KACI. Y

(M.C. Université de USMB)

IGUER-OUADA M.

(M.C. Université de Bejaia)

*Année 2008*

Liste des abréviations

Liste des illustrations

---

**Introduction** .....1

---

**Aperçu bibliographique**

---

**I. Généralités sur les plantes étudiées**

---

**I.1. *Ceratonia siliqua* .L**.....3

**I.1. 1. Données botaniques** .....3

**I.1. 2. Utilisation**.....5

**I.1. 3. Drogue** .....5

**I.1. 4. Données phytochimiques** .....5

**I.1.5. Données pharmacologiques** .....6

**I.1.6. Données Toxicologiques**.....6

**I.2. *Crataegus monogyna*. L** .....7

**I.2. 1. Données botaniques** .....7

**I.2. 2. Utilisation**.....9

**I.2. 3. Drogue**.....9

**I.2 4. Données phytochimiques** .....9

**I.2.5. Données pharmacologiques** .....10

**I.2.6. Données Toxicologiques**.....10

**I.3. *Fraxinus excelsior*.L** .....11

**I.3. 1. Données botaniques** .....11

I.3. 2. Utilisation.....	13
I.3. 3. Drogue.....	13
I.3.4. Données phytochimiques.....	13
I.3.5. Données pharmacologiques.....	14
I.3.6. Données Toxicologiques.....	14
<b>1.4. <i>Quercus coccifera L</i>.....</b>	<b>15</b>
I.4. 1. Données botaniques.....	15
I.4. 2. Utilisation.....	17
I.4.3. Drogue.....	17
I.4.4. Données phytochimiques.....	17
I.4.5. Données pharmacologiques.....	17
I.4.6. Données Toxicologiques.....	18
<b>1.5. <i>Urtica dioica. L</i>.....</b>	<b>19</b>
I.5. 1. Données botaniques.....	19
I.5. 2. Utilisation.....	21
I.5. 3. Drogue.....	21
I.5.4. Données phytochimiques.....	21
I.5.5. Données pharmacologiques.....	22
I.5.6. Données Toxicologiques.....	22

---

## **II. Etude de certaines de leurs activités biologiques**

---

II.1. Classification et structure des polyphénols.....	23
<b>II.2. Interactions polyphénols– protéines.....</b>	<b>28</b>
II.2.1 Interaction des polyphénols avec la Sérum Albumine Bovine (BSA).....	28
II.2.2 Interaction des polyphénols avec les protéines de la salive.....	29
II.2. 3. Principe de la complexation.....	29

II.2.4 Différentes liaisons mises en jeu .....	31
II.2.5 Paramètres influençant l'interaction polyphénols- protéines .....	32
<b>II. 3 Activité antioxydante</b> .....	34
II.3.1 Activité antioxydante des composés phénoliques .....	34
II.3. 2 Modes d'action des polyphénols .....	34
II.3. 4 Méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante .....	36
<b>II. 4 Activité antibactérienne</b> .....	39
II.4. 1 Activité antibactérienne des composés phénoliques .....	40
II.4. 2 Modes d'action des polyphénols .....	40

---

## Matériel et méthodes

---

<b>I. Matériel Végétal</b> .....	43
<b>II. Récolte des plantes et identification</b> .....	43
<b>III. Traitement des échantillons</b> .....	43
<b>IV. Etude phytochimique</b> .....	45
IV.1. Dosage des polyphénols totaux .....	45
IV.2. Dosage des polyphénols polaires .....	45
IV.3. Détermination des polyphénols polaires .....	46
IV.4. Dosage des flavonoïdes.....	46
IV.5. Dosage des tanins.....	47
<b>V. Étude de certaines activités biologiques des extraits de plantes testées</b> .....	47
V.1. Interaction polyphénols protéines (SAB) .....	47
V.1.1. Etude de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes...47	
V.1.2. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en NaCl .....	48
V.1.3. Etude de la densité optique en fonction du pH .....	48
V.2. Etude de l'activité antioxydante .....	48

V.2.1. Activité scavenger au radical DPPH <sup>•</sup> .....	49
V.2.2. Pouvoir réducteur .....	49
V.3. Etude de l'activité antibactérienne .....	50
<b>VI. Etude statistique</b> .....	<b>51</b>

---

## Résultats et discussions

---

<b>I. Traitement des échantillons</b> .....	<b>52</b>
I.1. Teneur en humidité séchage des feuilles .....	52
I. 2. Rendement en extrait sec .....	53
<b>II. Etude phytochimique</b> .....	<b>54</b>
II.1 Dosage des polyphénols totaux .....	54
II.2. Dosage des polyphénols polaires et apolaires .....	56
II.3. Détermination des flavonoides .....	57
II.4. Détermination des tanins .....	58
<b>III. Étude de certaines activités biologiques des extraits polyphénoliques des différentes plantes</b> .....	<b>60</b>
III.1. Étude de l'interaction polyphénols protéines (BSA) .....	60
III.1.1. Etude de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes .	60
III.1.2. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en Na Cl .....	62
III.1.3. Etude de la densité optique en fonction du pH .....	62
III.2. Etude de l'activité antioxydante .....	64
III.2.1. Activité scavenger au radical DPPH <sup>•</sup> .....	64
III.2.2. Effet de la concentration sur le radical DPPH .....	65
III.2. 3. Pouvoir réducteur.....	67
III.3. Etude de l'activité antibactérienne.....	70

---

**Conclusion** .....73

---

**Références bibliographiques** .....75

---

**Glossaire**

**Annexes**

## *Liste des abréviations*

---

**ABTS** : acide 2,2'-Azobis-ethylBenzoThiazoline-6-Sulphonique

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**BHA** : Butyl Hydroxy Anisol

**SAB** : Sérum Albumine Bovine

**DMPD**: Di Methyl-*p*-Phenylene Diamine

**DO** : Densité Optique

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazyle

**EAG** : Equivalent Acide Gallique

**EAT** : Equivalent Acide Tannique

**EQ** : Equivalent Quercétine

**GC-MS** : Gas Chromatography Mass Spectrometry

**HPLC** : High Performance Liquid Chromatography

**MH** : Mueller Hinton

**MS** : Matière Sèche

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**SDS** : Sodium Dodecyl Sulfate

**TEA** : TriEthAnolamine

**UFC** : Unité Formant Colonie

*Figures*

*Figure 1* : Photographie des feuilles de l'espèce *C. siliqua* de la région de Bejaia

*Figure 2* : Photographie des feuilles de l'espèce *C. monogyna* de la région de Bejaia

*Figure 3* : Photographie des feuilles de l'espèce *F. excelsior* de la région de Bejaia

*Figure 4* : Photographie des feuilles de l'espèce *Q. coccifera* de la région de Bejaia

*Figure 5* : Photographie des feuilles de l'espèce *U. dioica* de la région de Bejaia

*Figure 6* : Classification des polyphénols

*Figure 7* : Mécanisme réactionnel polyphénols- protéines

*Figure 8* : Liaisons mises en jeu dans l'interaction polyphénols protéines

*Figure 9* : Chélation des ions métalliques

*Figure 10* : Teneur en polyphénols totaux des extraits de plantes

*Figure 11* : Teneur en polyphénols polaire et apolaire des plantes

*Figure 12* : Teneur en flavonoïdes des différents extraits phénoliques

*Figure 13* : Teneur en tanins des extraits méthanoliques

*Figure 14* : Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées

*Figure 15* : Variation de la densité optique en fonction de la force ionique

*Figure 16* : Variation de la densité optique en fonction du pH

*Figure 17* : Pouvoir antiradicalaire en fonction des concentrations des extraits de plantes

*Figure 18* : Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques totaux et l'activité antiradicalaire des extraits de plantes

*Figure 19* : Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des plantes



---

*Figure 20* : Corrélation entre la teneur en composés phénoliques totale et le pouvoir réducteur des extraits de plantes

*Figure 21*: Corrélation entre le pouvoir réducteur et antiradicalaire des extraits de plantes

---

## *Tableaux*

*Tableau I*: Tableau des structures des composés phénoliques

*Tableau II*: Tableau représentant la teneur en eau des différentes plantes étudiées

*Tableau III*: Rendement en extrait sec des différentes plantes étudiées

*Tableau IV*: Tableau résumant les résultats du test d'inhibition du radical DPPH

*Tableau V*: Tableau illustrant les résultats de l'activité antibactérienne déterminée par la méthode des disques

Les plantes médicinales constituent depuis toujours une alternative idéale à travers leurs emplois dans plusieurs secteurs y compris le domaine médical et pharmaceutique. À cet égard, plusieurs résolutions ont été adoptées afin de répondre au regain d'intérêt suscité par leurs usages et comprendre ainsi certaines propriétés préconisées par nos ancêtres (Nostro *et al.*, 2002 ; Djeridane *et al.*, 2005). Avec le progrès de la biochimie et l'analyse organique et pharmacologique ainsi que la physiologie végétale, un tri rationnel dans la masse des actions attribuées aux plantes a été entamé pour comprendre certaines activités tributaires aux molécules bioactives présentes dans les végétaux (Nascimento *et al.*, 2000).

La plupart des matrices naturelles sont des molécules biologiquement actives qui constituent la clé de voûte du système interactionnel plantes et environnement, et ils sont assez souvent impliqués dans la défense des végétaux. Ces composés d'origine naturel présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale possédant un large éventail d'activités biologiques (Wills *et al.*, 2000). Les polyphénols font partie de ces substances actives qui trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie (Siddhuraju, 2007). Pour autant, leur connaissance est encore mal élucidée et leur étude devient de plus en plus un outil dans différentes disciplines scientifiques ; physiologie, biologie, botanique et également en technologie alimentaire.

L'Algérie est un pays possédant un capital nature très diversifié, sa position biogéographique privilégiée entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne l'enrichit d'un potentiel faunistique et floristique composée d'éléments méditerranéens, endémiques et autres et les connaissances traditionnelles relatives aux plantes et leurs propriétés permettent d'élargir le champ de valorisation par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologiques, évoquées par la médecine traditionnelle.

*A*fin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une revue de littérature est présentée sur les plantes étudiées décrivant leurs principales caractéristiques, leurs différentes utilisations ainsi qu'une synthèse des principaux résultats phytochimiques antérieurs relatifs aux espèces sélectionnées.

*L*e deuxième volet est voué aux résultats phytochimiques obtenus à partir des plantes sélectionnées. Cette partie décrit les étapes substantielles suivies au cours de cette étude (prétraitements, extraction et quantification des composés phénoliques).

*E*nfin le dernier volet de ce travail sera consacré à l'évaluation *in vitro* de quelques activités biologiques des extraits polyphénoliques des plantes étudiées, et proposé à la lumière des résultats obtenus différentes investigations et perspectives de recherche.

## **I.1. *Ceratonia siliqua* .L**

### **I.1. 1. Données botaniques**

#### **I.1. 1. 1. Description de la plante**

Le caroubier est un arbre de la famille des Fabacées (Légumineuses ou cesalpiniacées), originaire des régions méditerranéennes (Boullard, 1997 ; Balaban, 2003). C'est une essence thermophile d'une hauteur pouvant atteindre 15 m, d'un tronc épais et tordu, l'écorce brun et rugueux. Les Feuilles sont composées de 5 folioles ovales, coriaces, d'un vert sombre, luisantes sur la face dorçalle légèrement échancrées et plus pales sur la face ventrale (Boullard, 1997 ; Benzager-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Rejeb *et al.*, 1991). Les fleurs sont d'une couleur vert rougeâtre dépourvues de corolle, la floraison débute à la fin de l'été à l'automne (juillet à octobre novembre selon le climat) (Morton, 1987 ; Batlle et Tous, 1997). Les Fruits appelées caroube sont des gousses pendantes d'un brun chocolat à maturité dure et luisante, renfermant des graines (Batlle et Tous, 1997 ; Fintelman et Ureiss, 2004) ovoïdes, sinueuses sur le bord, séparées les unes des autres par des cloisons pulpeuses, la pulpe jaune pale contenue dans les gousses est farineuse et sucrée à maturité (Lizardo *et al.*, 2002 ; Makris et Kefalas, 2004).

#### **I.1. 1.2. Classification**

La classification de *C. siliqua* Gaussen *et al.* (1982) est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes (plantes à graine)

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae (Leguminosae)

Genre: *Ceratonia*

Espèce: *Ceratonia siliqua*. L

### I.1.1. 3. Nom vernaculaire

Français : Caroube, pain de saint Jean, fève de pythagore

Anglais : Carob, St John's Bread  
(Morton, 1987)

Berbère : Taslifou, (Djerroumi et Nacef, 2004)

Arabe : El Kharroube, riba  
(Djerroumi et Nacef, 2004)



**Figure 1 :** Photographie des feuilles de l'espèce *C. Siliqua* de la région de Bejaia

### I.1.1. 4. Etymologie et origine

Le nom de caroube dérive du mot arabe kharoube, son nom latin *Ceratonia* vient du grec Keratia signifiant petit corne en se referant à ses fruits ; caroubes ou gousses en forme de corne à maturité, le nom de l'espèce siliqua désigne en latin une silique ou gousse (Batlle et Tous, 1997). Le caroubier est originaire d'orient (Arabie Saoudite), (Morton, 1987 ; Lambraki, *et al.*, 1994)

### I.1.1.5. Habitat et distribution géographique

Le caroubier est originaire d'orient mais qui s'étend sur le pourtour méditerranéen (Lambraki *et al.*, 1994 ; Batlle et Tous, 1997) il a été largement diffusé par les arabes et les berbères dans la péninsule ibérique (Rejeb, 1995). On le rencontre actuellement en allant de l'Espagne et Portugal, jusqu'en Turquie en passant par le Maroc et l'Algérie (Rejeb, 1995 ; Batlle et Tous, 1997). La caroube algérienne est connue pour ses vertus et sa couleur très caractéristique (un marron qui tire vers le foncé) lui confère une renommée internationale. C'est une essence rustique très intéressante, thermophile qu'on retrouve sur les pentes arides résistantes aux fortes sécheresses

estivales et à des pluies irrégulières mais ne tolère pas le froid (Morton, 1987) il s'adapte à plusieurs types de sols à l'exception des sols hydro morphes et salés (Rejeb, 1995 ; Bures *et al.*, 2004).

### **I.1. 2. Utilisation**

C'est une plante mellifère et pastorale très intéressante en égard de ces particularités biologiques, écologiques éventuellement socioéconomique indéniable (Lizardo *et al.*, 2002). Tous ces composants étant utilisés il ne génère pratiquement pas de déchets, ses feuilles et la pulpe des ses fruits sont riches en unités fourragères, son bois est très apprécié en ébénisterie ainsi que la fabrication du charbon, quant à l'écorce et ses racines, ils sont employés dans le tannage (Rejeb, 1995).

L'arbre peut contribuer à l'amélioration des ressources pastorales du pays, il peut être cultivé en arbre ornemental (Morton, 1987) compte tenu de sa couronne sphérique et son feuillage persistant (Rejeb *et al.*, 1991 ; Rejeb, 1995) et on tire à partir de cette plante deux produits très différents utilisés par les industries agroalimentaires la farine (poudre) et la gomme (Batlle et Tous, 1997)

### **I.1. 3. Drogue**

C'est le fruit et la graine qui sont utilisés, les fruits sont récoltés en fin d'été jusqu'à la moitié de l'automne et ils sont généralement employés dans le traitement des diarrhées (Paris et Hurabielle, 1988).

### **I.1. 4. Données phytochimiques**

Elle a été exploitée depuis des siècles dans l'alimentation humaine et animale, aujourd'hui elle est principalement utilisée dans la fabrication de la gomme de caroube (Batlle et Tous, 1997 ; Lizardo *et al.*, 2002)

L'espèce *C. siliqua* est connu par sa constitution en tanin (Mangan, 1988 ; Lambraki *et al.*, 1994). On a pu identifier plusieurs principes actifs à partir du caroube ; on retrouve par exemple de l'arginine qui lui procure une propriété aphrodisiaque, on décèle également de l'acide gallique, glutamate de l'acide linoléique (Duke *et al.*, 2003) et au niveau de la pulpe des proportion assez élevées en oses principalement glucose,

saccharose, de la cellulose, de protéine (Lambraki *et al.*, 1994 ; Silanikove *et al.*, 1994 ; Kivak *et al.*, 2002) quant aux graines elles contiennent près de 90% d'un galatomannane (Benzager-Beauquesne *et al.*, 1990).

#### **I.1.4. Données thérapeutiques et pharmacologiques**

La pulpe du fruit est un antidiarrhéique grâce à la présence des tanins qui sont très utilisés pour soigner les gastro-entérites des nourrissons en substitution partielle de l'amidon et de la caséine. Provoque un abaissement du cholestérol sanguin et hépatique chez les rats. Quant à la gomme elle est très utilisée contre les vomissements du nourrisson, elle est non digestible, ôte la sensation de la faim, on la propose pour le traitement de l'insuffisance rénale chronique, capable de capter dans le liquide intestinale des malades l'urée, la créatinine, l'acide urique, ammoniac et phosphates provoquant un abaissement assez important de l'urémie (Benzager-Beauquesne *et al.*, 1990). Des études réalisées sur les feuilles de *Ceratonia siliqua L* ont démontrées une activité inhibitrice vis-à-vis de certaines bactéries et peut même présenter une activité cytotoxique (Kivçak *et al.*, 2002). Ses tanins présentent d'importantes propriétés antidiarrhéiques et ils sont des astringents naturels qui s'utilisent régulièrement dans la prévention et le traitement des diarrhées (Lizardo *et al.*, 2002).

#### **I.1.5. Données Toxicologiques**

Très peu d'effets indésirables liés à la prise de la caroube ont été rapportés les rares cas observés sont des réactions allergiques (Morton, 1987).



## **I.2. *Crataegus monogyna*. Jacq**

### **I.2. 1. Données botaniques**

#### **I.2.1.1. Description de la plante**

L'aubépine est un nom commun à toute les espèce du genre *Crataegus*, elle comprend environ 280 espèces pour la plupart épineuses (Chang *et al.*, 2002) certains d'entre elles sont officiellement énumérées dans les pharmacopées de plusieurs pays (Bruneton, 1999). *Crataegus monogyna* encore appelée épine blanche; est un arbrisseau de 2-4 mètres très robuste formant des enchevêtrement impénétrables de rameaux à l'écorce (Messegue, 1975 ; Wichtl et Anton, 2003). Ses feuilles sont d'un vert sombre et luisantes en dessus, plus pales en dessous, caduques, obovées, échancrées, pétiolées de 3 à 5 lobes pointus et plus ou moins dentés (Messegue, 1975 ; Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ). Les fleurs sont blanchâtres fortement odorantes presque nauséabondes quand elles sont rassemblées en amas, fleuris à la fin du printemps (Messegue, 1975). Le Fruit appelé « cenelle » est une baie non toxique d'un rouge vineux à jaune- brun rouges en automne contenant une seule graine (Messegue, 1975 ; Chang *et al.*, 2002).

#### **I.2.1.2. Classification**

La classification selon Guignard (1989) de *C. monogyna*, est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rosales

Famille : Rosaceae

Genre: *Crataegus*

Espèce: *Crataegus monogyna*. L

#### **I.2.1.4. Nom vernaculaire**

Les noms vernaculaires de *Crataegus monogyna* sont énumérés comme suit :

**Français :** Aubépine monogyne, épine Blanche, albépine, noble Épine, cennelier (Zhang, 2002)

**Anglais:** Hawthorn, Quickthorn (Zhang, 2002)

**Arabe:** Zaarour Berri, baba aajina (Djerroumi et Nacef, 2004)

**Berbère:** Idhmim, atelmen (Djerroumi et Nacef, 2004)



**Figure 2:** Photographie des feuilles de l'espèce *C. monogyna* de la région de Bejaia

#### **I.2.1.5. Étymologie et origine**

L'aubépine est un mot féminin qui vient du nom du latin "*alba spina*" épine blanche en raison de sa fleur blanche (du type de la rose) et des épines à la base. *Crataegus* vient du grec de *kratos* qui signifie force faisant allusion à la dureté de son bois et *monogyna* fait référence à possession d'un seul style de fleur. Elle est commune dans les haies des zones tempérées de l'hémisphère nord (Zhang, 2002).

#### **I.2.1.6. Habitat et distribution géographique**

Native d'Europe et d'Asie occidentale avec une faible aire de distribution en Afrique du nord-ouest cultivée comme haie en Angleterre, retrouvée dans toutes les zones tempérées nordiques. C'est une espèce héliophile ou de demi ombre mais fleurissent mieux en plein soleil, croissant sur des sols riches en bases (calcium) préférence argileux et avec un sous-sol calcaire dont le pH est neutre à légèrement acide, supportant le froid (Williams et Bruxton, 1986).

### **I.2.2. Utilisation**

Son utilisation est variée, c'est un arbuste d'ornement mellifère très apprécié utilisé isolé, en groupe, en alignement massif, haies naturelles ou taillées (Messegue, 1975).

En Europe centrale et orientale la cenelle ou le fruit de l'aubépine souvent dénommés "poires d'oiseau" ou "poires à Bon Dieu", est largement réduit en farine qui est utilisée pour la fabrication du pain de disette, mais également une boisson fermentée très enivrante et agréable différant peu du poiré. En médecine elle est l'une des meilleures substances phytopharmaceutiques ; Utilisée en infusion ou décoction contre les fièvres, les spasmes nerveux et diarrhée (Messegue, 1975 ; Djerroumi et Nacef, 2004).

### **I.2.3. Drogue**

La feuille et la fleur séchée (rameaux florifères séchés entiers ou coupés) sont deux drogues fournies par l'aubépine (Bruneton, 2002). Les fruits sont également cueillies en début de floraison séchés à l'ombre et utilisés en infusion contre les diarrhées, la goutte et autre ; il en est de même pour l'écorce qui est récolté avec la monté de la sève et peu être utilisé frais ou séché (Messegue, 1975 ; Bruneton, 2002 ; Djerroumi et Nacef, 2004). Les feuilles et les fleurs peuvent être administrées par voie orale, en infusion (tisane) ou décoction (infusion froide) mais également par voie externe on effectuant des bains de main et des pieds. Actuellement, des préparations à base d'aubépine occupent une place prépondérante dans le domaine de la pharmacothérapie, ces préparations renferment des extraits secs, fluides, des teintures (préparer avec 40 à 50% d'alcool) (Messegue, 1975 ; Bruneton, 1999 ; Wichtl et Anton, 2003)

### **I.2.4. Données phytochimiques**

*Cr. monogyna* est principalement constituée figure en annexe (6) de flavonoïdes ; rutine, hypéroside (galactoside en 3quercétol), rutoside, des flavones glycosylées (vitexine, vitexine-2 rhamnoside, et son dérivé, le 4-acétyl (Bruneton, 1999 ; Zhang, 2002; Urbonaviciute *et al.*, 2006). Elle contient également de la catéchine et epicatéchine des oligomères procyanidiniques ou des tanins condensés former de flavan3-ols dimères

(Wichtl et Anton, 2003 ; Cui *et al.*, 2006), des acides phénoliques (acide chlorogénique, caféique), des polysaccharides neutres (Cui *et al.*, 2006), des tri terpènes pentacycliques (oleanolique, ursolique), de faibles quantités d'amines biogènes (Khosh et Khosh, 2001), des stérols, des traces d'huiles essentiels (Chang *et al.*, 2002 ; Zhang, 2002).

### **I.2.5. Données thérapeutiques et pharmacologiques**

L'activité des extraits d'aubépine est justifiée par de nombreuses études cliniques et pharmacologiques tributaire à l'action conjointe de ses constituants notamment en flavonoïdes notamment l'hyperoside et la vitexine et procyanidines (Haslam, 1998 ; Samura *et al.*, 2005). Elle régularise le rythme cardiaque (Zapatero, 1999 ; Svedstrom *et al.*, 2006) cet effet a été démontré par études cliniques sur l'homme, en effet l'administration prolongée de préparation à base de cet extrait s'avère très efficace sur l'artère coronaire (Vierling *et al.*, 2003) contribuant à l'augmentation de l'apport sanguin au muscle cardiaque et par voie de conséquence son oxygénation, sa nutrition et son activité (Chang *et al.*, 2002 ; Urbonaviciut *et al.*, 2006). On plus de ces usages, elle contribue à l'apaisement des règles douloureuses (Zhang, 2002) utilisée également pour traiter les troubles urinaires; rétention d'eau, hypertension, hydropisie (anasarque), calculs urinaires, sans pour autant oublier son activité antioxydante (Wichtl et Anton, 2003).

### **I.2.6. Données toxicologiques**

On lui connaît pas ou très peu d'effets indésirables liés à la prise d'extrait d'aubépine (Messegue, 1975 ; Bruneton, 1999). Au cours d'une étude impliquant 3664 patients recevant quotidiennement une dose élevée d'extrait (900mg), 26 patients uniquement ont signalé un effet indésirable pouvant entre autre être en relation avec le traitement prescrit et aucune interaction médicamenteuse ne semble être signalé (Bruneton, 2002).

### **I.3. *Fraxinus excelsior*.L**

#### **I. 3.1 Données botaniques**

##### **I. 3.1.1. Description de la plante**

C'est un arbre majestueux à cime arrondie appartenant à la famille des Oléacées pouvant atteindre 30m, à écorce lisse et grisâtre, à rameaux luisants portant des bourgeons latéraux sphériques (Scimeca et Tetaux, 2005). Les Feuilles sont imparipennées formées de 7 à 15 folioles lancéolées, denticulées et effilées s'insèrent directement sur la nervure principale, elles sont glabres d'un vert moyen au dessus, légèrement pubescentes en dessous (Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Scimeca et Tetaux, 2005). Les fleurs sont des apétales, groupées en panicules, opposées, apparaissent avant les feuilles, composées de petites boules rouge-violacées, puis à complète éclosion : jaune verdâtres, apparaissent en avril mai suivant les conditions climatiques (Messegue, 1975 ; Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1990). Quant aux fruits appelées « samares » elles sont aplaties, indéhiscentes prolongées par une aile membraneuse, coriace et disposées en grappes pendantes (Messegue, 1975 ; Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Boullard, 2001).

##### **I. 3.1. 2. Classification**

Selon Guignard et Dupont (2004), la classification de *F. excelsior* est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Oleales

Famille : Oleaceae

Genre: *Fraxinus*

Espèce: *Fraxinus excelsior*. L

### **I. 3.1. 3. Nom vernaculaire**

Français : Grand frêne, quinquina d'Europe, l'ssane l'ousfour (Eddouks *et al.*, 2005)

Anglais : Ash tree (Gerosa *et al.*, 2003)

Arabe: Dardar (Djerroumi et Nacef, 2004)

Kabyle: Asslen, adardar (Djerroumi et Nacef, 2004)



**Figure 3:** Photographie des feuilles de l'espèce *F. excelsior* de la région de Bejaia

### **I. 3.1. 4. Etymologie et origine**

Le mot "fraxinus" dérivé du grec phraxis qui veut dire clôture, haies, dans les forêts. Le genre *Fraxinus*, est représenté par 65 espèces à travers le monde indigène en Europe, Scandinavie, Russie, l'Asie et l'Amérique du nord (Percivala *et al.*, 2006 ; Meusinger, 2006).

### **I. 3.1.5. Habitat et distribution géographique**

*F. excelsior* couvre toute l'Europe occidentale, l'Asie occidentale, l'Afrique du nord, l'Amérique. C'est une essence ligneuse, autochtone, fondamentale des forêts européennes. C'est une espèce post-pionnière qui a des exigences édaphiques marquées en particulier en ce qui concerne l'alimentation en eau, sa croissance est donc optimale sur les sols profonds humides à frais notamment dans les vallées alluviales, elle est sensible à la sécheresse et tolère la pollution atmosphérique (Percivala *et al.*, 2006). Elle est considérée comme une espèce nitrophile qui se développe bien sur les sols calcaires à légèrement acides (Hofmeister *et al.*, 2004).

### **I. 3.2. Utilisation**

Les nombreuses qualités technologiques du frêne font de son bois un produit très adulé. Il est très résistant, se rétracte peu et se prête bien au façonnage manuel ou mécanique. En aménagement intérieur ses abondantes régénérations naturelles, son fort potentiel de croissance et sa qualité font de cette plante une essence sylvicole importante en forêt. Le frêne contribue à la stabilisation de pentes menacées par des mouvements de terrain. Son réseau racinaire étendu et dense fixe les talus de rives et permet ainsi d'éviter qu'elles ne soient érodées et emportées par l'eau (Percivala *et al.*, 2006). On les utilise en infusion comme préparation laxative et diurétique (Messegue, 1975 ; Djerroumi et Nacef, 2004)

### **I. 3.3. Drogue**

La partie aérienne utilisée est la feuille grâce sa teneur élevée en composés actifs, flavonoides, coumarines, tanins et autre, procure au *F. excelsior*, des vertus très attrayant (Bruneton, 1999 ; Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1990).

### **I. 3.4. Données phytochimiques**

Un intérêt accru pour la phytochimie de *F. excelsior* a été motivé par la découverte des glucosides de secoiridoid 1-3, qui constituent les métabolites principaux du genre et de la famille des Oleaceae (Egan *et al.*, 2004). La figure en annexe (7) illustre les principaux constituant phytochimiques de cette plante. En étudiant sa composition chimique on y décèle la présence de benzoquinones, phenylethanoïdes glycosides, mannitol, sels de potassium, de mucilages (Egan *et al.*, 2004 ; Kostova et Iossifova, 2007). On peut évoquer également sa grande teneur en polyphénols, on retrouve des acides phénoliques et ses dérivés tels l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide protocatehique, l'acide vanillique, de l'acide gallique, et ses dérivés hydroxy p-coumariques, caféique (Kostova et Iossifova, 2007). On retrouve également des flavonoides (rutoside, Catéchine et epicatechine) (Bézanger- Beauquesene *et al.*, 1990 ; Kostova et Iossifova, 2007), on a constaté la présence de coumarine glycoside dénommée fraxine (7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin-8-β-D-glucopyranoside ou 8-(β-D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-6-methoxycoumarin) (Meusinger, 2006) et de excelsioside (Bruneton, 1999)

### **I. 3.5. Données thérapeutiques et pharmacologiques**

L'histoire thérapeutique du frêne remonte à plusieurs ères, ses feuilles sont inscrites dans la pharmacopée française très tôt grâce à des molécules bioactives qu'il peut contenir (Leclerc, 1976 ; Maghrani *et al.*, 2004). Les propriétés de ses feuilles sont connus depuis Hippocrates, pour leurs effets diurétiques et laxatives (Leclerc, 1976 ; Eddouks et Maghrani, 2004) grâce à leur teneur en mannitol, ce qui facilite l'élimination de l'eau (Boullard, 2001). C'est un antiarthritique et analgésique, il est aussi très utilisé contre les constipations (Maghrani *et al.*, 2004 ; Kostova et Iossifova, 2007). On a récemment prouvé qu'ils peuvent avoir une activité hypoglycémique (Maghrani *et al.*, 2004) et certain auteurs on même pu illustré leur activité antihypertensive (Eddouks *et al.*, 2005). Des études récentes réalisées sur les feuilles de *F. exlèsior*, ont démontré leur activité antioxydante, grâce à leur composition en polyphénols. Leurs propriétés anti-inflammatoires sont liées à leurs teneurs en flavonoïde, rutoside et sont de ce fait particulièrement adaptées pour soigner naturellement la goutte, l'arthrose, les rhumatismes et les problèmes de rétention d'eau et d'oedème (Messegue, 1975 ; Bézanger-Beauquesene *et al.*, 1990 ; Maghrani *et al.*, 2004). Des travaux sur des extraits de feuilles de *F. excelsior L* affirme leur aptitude à inhiber la croissance de plusieurs champignons (Kostova et Iossifova, 2007) et ses qualités d'anti fièvre les font recommander dans tous les cas d'infections par des verus ou des bactéries (Messegue, 1975).

### **I.3.6. Données toxicologiques**

La commission Allemande n'autorise pas encore l'emploi de cette drogue, puisque la proportion adéquate n'a pas été justifiée, néanmoins, elle n'est formellement prohibée (Bruneton, 1999)



## **I.4. *Quercus coccifera*.L**

### **I.4. 1.Données botaniques**

#### **I.4.1.1. Description de la plante**

Le chêne est le nom vernaculaire de nombreuses espèces d'arbres et d'arbustes appartenant au genre *Quercus* (Gausсен *et al.*, 1982). Il existe plusieurs centaines dans le monde la plupart autour de la Méditerranée orientale parmi lesquelles on retrouve le chêne-liège (*Quercus suber*), le chêne pédonculé (*Quercus pedunculata*), le chêne kermès (*Quercus coccifera*) (Messegue, 1975). *Quercus coccifera* L. est une plante biennuel appartenant à la grande famille des fagacées, c'est un arbuste ou arbrisseau touffu à port buissonnant d'une hauteur maximum de 3 mètres, à tiges recouvertes d'une écorce brun noir finement crevassé, portant de nombreux rameaux enchevêtrés (Dureau *et al.*, 2003). Ses feuilles sont persistantes, coriaces, dentées épineuses, d'un vert foncé à sa face supérieure plus claire sur sa face intérieure (Laaidi, 1997 ; Dureau *et al.*, 2003). Quant aux fleurs elles sont jaunâtres apparaissent en avril mai pourvus d'une cupule écailleuse très piquante (Laaidi, 1997 ; Djerroumi et Nacef, 2004). Le fruit « akène »est un gland plus ou moins profondément inséré dans une cupule garnie d'écailles rigides terminés en pointe aiguë isolés portés par un pédoncule très court (Laaidi, 1997 ; Djerroumi et Nacef, 2004).

#### **I.4.1.2.Classification**

La classification selon Gausсен *et al.* (1982) de *Q. coccifera*, est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Fagales

Famille : Fagaceae

Genre: *Quercus*

Espèce: *Quercus coccifera*. L

#### **I.4.1.3. Nom vernaculaire**

Les noms vernaculaires de *Q. coccifera* sont énumérés comme suit :

Français : Chêne kermès, chêne à cochenille, chêne garrigue (Laaidi, 1997)

Anglais: Oaks, Kermes oaks (Pascual *et al.*, 2002)

Arabe: El Balout (Djerroumi et Nacef, 2004)

Berbère: Abalout (Djerroumi et Nacef, 2004)



**Figure 4:** Photographie des feuilles de l'espèce *Quercus coccifera* de la région de Bejaia

#### **I.2.1.4. Étymologie et origine**

Le chêne kermès est un petit chêne exclusivement méditerranéen, son nom vient du mot arabe « alqirmiz », qui veut dire chêne porteur de cochenille, parasite qu'il abrite, appelé Kermès vermillon, son nom latin *Quercus* vient de *cocum*, *coccifera* vient du mot latin *fero* et qui veut dire porter faisant allusion au parasite (Laaidi, 1997).

#### **I.4.1.5. Habitat et distribution géographique**

C'est une espèce du bassin méditerranéen occidental, on peut la retrouver en Portugal, Espagne, en France, en Afrique du Nord, en Tunisie (Ben Salem *et al.*, 2005), en Algérie en la rencontre dans les régions d'Annaba, Blida et en Kabylie (Laaidi, 1997). Ce sont les conditions climatiques et hydriques qui déterminent avant tout sa répartition, sa préférence pour les régions à faible pluviosité, et une certaine sensibilité, aux températures minimales trop faibles (Laaidi, 1997 ; Dureau *et al.*, 2003), il croit, sur des sols riches en calcaires, parfois siliceux, et pierreux et les associations de type garrigue (Laaidi, 1997 ; Papatheodorou et Stamou, 2004).

#### **I.4.2.Utilisation**

L'extension actuelle de *Q. coccifera* résulte d'un long passé de valorisation économique, auquel a succédé un siècle d'abandon de toute activité d'exploitation. Ce qui témoigne des multiples intérêts qu'elle a suscités par le passé (Dureau *et al.*, 2003). La plupart des chênes sont appréciés pour leur bois, qui est dur et dense, cette qualité, alliée à la forme courbe de ses branches, était mise à profit en construction navale, le chauffage domestique, mais il existe bien d'autres utilisations, selon la partie de l'arbre employée. On en fait également des tonneaux du fait de la présence de tanin. Il est parasité par le kermès, ou cochenille, un insecte dont les oeufs séchés et traités servaient à confectionner une teinture de couleur écarlate. Son écorce est utilisée pour tanner le cuir (car elle contient du tanin). Enfin, son gland, riche en amidon, servait à engraisser les porcs ; torréfié, il constituait un substitut de café (Laaidi, 1997).

#### **I.4.3. drogue**

Les feuilles sont cueillies en été, utilisés en infusion pour soigner les saignement, les diarrhées, l'écorce récolté en automne et utilisé en compresse, contre les gerçures et les dermatoses. Les glandes sont cueillies quand ils sont bien mures, ils sont employées contre les maux digestifs (Djerroumi et Nacef, 2004).

#### **I.4.4. Données phytochimiques**

En étudiant la composition chimique de *Q. coccifera*, elle dispose en éléments minéraux tels calcium, potassium, fer et magnésium, des protéines et des matières organiques (Papatheodorou et Stamou, 2004 ; Ben salem *et al.*, 2005). On retrouve des quantités de polyphénols (Ben salem *et al.*, 2003), des tanins hydrolysables appelés cocciferine D2 et des ellagitanins (Ito *et al.*, 2002 ; Khennouf *et al.*, 2003), et selon la littérature les feuilles de chênes sont connues, pour leur richesse en tanins (Dawra *et al.*, 1988), on retrouve aussi de la lignine (Ben salem *et al.*, 2005), des molécules organiques volatiles biogéniques tels les terpènes (Ormeno *et al.*, 2007).

#### **I.4.5. Données thérapeutiques et pharmacologiques**

Les chênes, par leur richesse en tanins, sont essentiellement antidiarrhéiques (Boullard, 2001), d'arrêter le sang, resserrer les tissus trop agressés par les traumatismes ou les infections, dans tous les cas d'hémorragies d'ulcères, de crachement de sang, on peut également l'utilisé pour soigner les diarrhées, des varices et d'eczémas (Messegue, 1975). Khennouf *et al.* (2003), ont montré que des extraits acetoniques de feuilles de *Q. coccifera*, présentent des effets gastroprotecteurs sur des lapins.

#### **I.4.6. Données toxicologiques**

Pour l'homme le risque majeur lié aux fagacées est avant tout professionnel, la responsabilité des poussières dégagées lors du travail, du bois dans l'apparition de rhinites, d'asthme bronchique et d'autres affections néoplasiques (Bruneton, 1999).

La toxicité due à la consommation des feuilles de chânes peut être attribué aux tanins hydrolysables particulièrement les gallotanins (Makkar et Becker, 1998). Il n'est pas par contre de même pour les glandes qui, consommées en grande quantité représentent un risque mortel pour la plus part des animaux de et l'intoxication du bétail par les glandes est assez fréquente dans toutes les zones géographiques où poussent les chênes. Ce problème est souvent attribué à l'effet des tanins sans considérer le profil nutritif (Ben Salem, 2003).

## **I.5. *Urtica dioica*. L**

### **I.5.1. Données botaniques**

#### **I.5.1.1. Description de la plante**

La famille des Urticacées est présente partout dans le monde mais la grande ortie ou ortie dioïque (*Urtica dioica*. L) est la plus commune de toute (Bruneton, 1999).

C'est une plante herbacée, vivace, vigoureuse, d'un vert sombre, pourvue de tiges robustes, dressées, quadrangulaires, non ramifiée (Messegue, 1975 ; Beloued, 1998).

Des feuilles ovoïdes, opposées, pétiolées et dentés recouvertes de poils hérissés urticants appelés « cytolithes » (Zhang, 2002) ils se brisent facilement injectant des substances telles : histamine, l'acétylcholine, acide formique (Messegue, 1975 ; Gausсен et al., 1992 ; Bruneton, 1999). Les fleurs sont verdâtres portées par des pieds différents forment de longues grappes dressées, rameuses plus longues que les pétioles, réunies en inflorescences (Bezanger-Beauquesne et al., 1990 ; Wichtel et Anton, 2003) quand aux fruits appelés « akène » enfermés dans un calice persistant, rempli de minuscule graines brunâtre à noirâtre (Gausсен et al., 1992).

#### **I.5. 1.3. Classification**

Selon Guignard (1989) la classification de *U. dioica* est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Urticales

Famille : Urticaceae

Genre: *Urtica*

Espèce: *Urtica dioica*. L

#### **I.5. 1.4. Nom vernaculaire**

Français : Ortie, grande ortie, ortie piquante, dioïque (Valent, 2003)

Anglais : Nettle, common nettle, greater nettle (Caldecott, 2002)

Arabe: Horeig, bent anar (Beloued, 1998)

Berbère : Azegdouf, rimezrit (Beloued, 1998)



**Figure 5.** Photographie des feuilles de l'espèce *Urtica dioica* de la région de Bejaia

#### **I.5. 1.5. Etymologie et origine**

Le genre *Urtica* est indigène au Canada, il se compose d'une trentaine espèces distribuées dans les deux hémisphères (Bertrand, 2001).

Il tire son nom du latin « uro » ou « urere » qui veut dire brûler faisant allusion à ses poiles urticants et dont le contact est très irritant (Valent, 1992 ; Rioux *et al.*, 2005), le mot *dioica* vient de dioïque qui signifie que les deux sexes (males et femelles) sont portés par des pieds différents (Valent, 1992 ; Zhang, 2002)

#### **I.5. 1.6. Habitat et distribution géographique**

Elle est indigène d'Afrique et l'Asie occidentale mais s'étend actuellement dans toutes les régions tempérées du monde en Afrique du nord et l'Amérique du Sud, l'Asie, l'Australie et l'Europe (Zhang, 2002 ; Rioux *et al.*, 2005). En Algérie elle sillonne les ravins frais des montagnes de Djurdjura, Atlas de Blida et d'Akfadou (Beloued, 1998). C'est une plante rudérale, envahissante, cosmopolite des endroits incultes, elle est présente le plus souvent dans des endroits humides et les haies, décombres et au tour des habitations, elle pousse assez souvent en grands massifs dans lesquels vivent un bon nombre d'insectes, elle est dite nitrophile contribuant à débarrasser le sols de son excès en fer, elle affectionnent particulièrement les sols riche en azote humide mais drainés, tolère l'ombre (Valent, 1992 ; Zhang, 2002).

### **I.5. 2. Utilisation**

L'utilisation de l'ortie est multiple dans le domaine alimentaire elle perd son caractère urticant au séchage ou à la cuisson mais elle est surtout consommée cuite en soupe (Bnouham, *et al.*, 2003 ; Guil-Guerrero *et al.*, 2003). Elle très usitée en médecine traditionnelle en infusion ou décoction contre plusieurs maladies telles la jaunisse, les règles abondantes, l'urticaire, l'anémie et également pour le traitement du cuir chevelu (Messegue, 1975 ; Rioux *et al.*, 2005), la liste de son utilisation demeure non exhaustive, sa richesse en sels minéraux et oligo-éléments contribue à son utilisation en purin (macération, filtration) et très employée comme en activateur de croissance (Bruneton, 2002).

### **I.5. 3.Drogue**

Ce sont les parties aériennes notamment les feuilles qui sont utilisées dans la majorité des préparations médicinales. Ces dernières sont récoltées au printemps puis sont utilisées soit fraîches soit séchées. Les racines sont également utilisées chez l'homme pour leurs propriétés diurétiques en cas d'hypertrophie de la prostate (Bruneton, 1999 ; Wichtl et Anton, 2003).

### **I.5. 4. Données phytochimiques**

L'ortie dioïque est riche en éléments minéraux essentiellement en fer, calcium, potassium, silicate partiellement solubles (Hojnik *et al.*, 2007) contient également des caroténoïdes (figure en annexe8) (Guil-Guerrero *et al.*, 2003), de la chlorophylle qui est très utilisé comme colorant dans le domaine alimentaire et médicale (Guil-Guerrero *et al.*, 2003 ; Hojnik *et al.*, 2007) de la vitamine A et de l'acide ascorbique (Ozen et Korkmaz, 2003 ; Chrubasik *et al.*, 2007) elle renferme acides aminés libres, des glucides à l'état libre ou complexées, des glycoprotéines, des acides gras (Guil-Guerrero *et al.*, 2003). Des substances secondaires telles les acides phénoliques, l'acide caféique et ses esters, l'acide gallique, et des tanins ; l'acide cafeyl- malique (Leclerc, 1994 ; Valent, 2003 ; Chrubasik *et al.*, 2007). Elle est riche en flavonoides (3-glucosides, et 3-rutinisides du quercétol, du kaempférol, et de l'isorhamnétol (Konrad *et al.*, 2000 ; Wichtl, 2003), on a isolé des lignanes, coumarines, triterpènes, céramides, stérols et lectines, parmi elles on retrouve l'acide oxalique, l'acide

linoléique, le scopoletine, le p-hydroxybenzaldehyde, l'alcool de homovanillyl (annexe8) (Zhang, 2002). On retrouve aussi des traces de nicotine, de faibles quantités d'acétylcholine, d'histamine, de sérotonine, de l'acide formique et des huiles essentiels (Özen et Korkmaz, 2003).

### **I.5. 5. Données thérapeutiques et pharmacologiques**

Considérée comme une panacée au moyen age les parties aériennes et la racine figurent en France sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la pharmacopée (Bruneton, 2002). On lui attribue diverses propriétés ; dépuratives, diurétiques, (Wichtl et Anton, 2003 ; Chrubasik *et al.*, 2007) antioxydantes (Özen et Korkmaz, 2003 ; Chrubasik *et al.*, 2007), antimicrobiennes (Gulçin *et al.*, 2004 a) d'antihypérglycemiantes (Bnouham *et al.*, 2003). C'est une excellente hypotenseur, hémostatique et vasoconstricteur (Cetinus *et al.*, 2005). Elle se révèle bénéfique dans le cadre d'une insuffisance hépatique et pancréatique en stimulant la production d'enzymes (Wichtl et Anton, 2003) des règles douloureuses mais aussi de rhumatismes articulaires, d'arthrose de périarthrite (Leclerc, 1994 ; Riehemann *et al.*, 1999). On la conseille en usage interne (infusion ou décoction) en cas d'inflammation de la vessie et des voies urinaires (Wichtl et Anton, 2003) mais peut être administrée en usage externe pour traiter les entorses, névralgie et soulager les douleurs arthritiques, pour le traitement du cuir chevelu et des affections de la peau tel l'eczéma (Riehemann *et al.*, 1999)

### **I.2.5. Données toxicologiques**

Elle possède une toxicité minimale ou négligeable par rapport à l'homme, des études réalisées sur des animaux ont démontré qu'à une certaine dose l'extrait d'*Urtica dioica* peut être toxique, en effet l'administration par voie oral d'un extrait d'éthanol (50%) a présenté chez des lapins une toxicité aiguë associé à une diarrhée occasionnelle (Wichtl et Anton, 2003). Une injection sous-cutanée par contre elle était tolérée alors qu'une dose très élevée a eu comme conséquence la mort de ces animaux. Ils ont également observé que l'ébullition de cet extrait diminue sa toxicité. Le LD50 intra péritonéal de l'extrait aqueux chez des souris s'est avéré 3625 mg/kg (Bnouham *et al.*, 2003 ; Chrubasik *et al.*, 2007).



## II. Etude de certaines activités biologiques des composés phénoliques

### Introduction

Les polyphénols communément dénommés composés phénoliques sont présents de façon ubiquitaire dans le règne végétal (Scalbert et Williamson, 2000) depuis les racines jusqu'aux fruits, cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures chimiques variées (Mompon *et al.*, 1998).

A l'heure actuelle, plus de 8000 composés naturels satisfaisant à ces critères ont été isolés et identifiés leur point commun, présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle *et al.*, 2004) issues du métabolisme de l'acide shikimique et ou de celui d'un polyacétate (Ribereau-Gayon, 1968)

### II.1 Classification et structure des polyphénols

Les polyphénols regroupent de grande classe chimique qui se distingue entre elle par la nature de leur squelette carboné ils sont illustrés dans le tableau ci après

**Tableau I** : Tableau des structures des composés phénoliques (Balasundram *et al.*, 2006)

Classe	Structure
Phénols simples, benzoquinones	C <sub>6</sub>
Acides hydroxybenzoïques	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Acéthophenones, acides phénylacétique	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Acides hydroxycinnamiques, phénylpropanoïdes (coumarines, isocoumarines, chromones, chromènes)	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naptoquinones	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Xanthones	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Stilbènes, anthraquinones	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignanes, néolignanes	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Biflavonoïdes	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>
Lignines	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Tannins condensés (proanthocyanidines)	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

Plusieurs classifications des polyphénols ont été avancées, Ribereau-Gayon, (1968) les a classé comme suit qui est :

- Acides benzoïques, acides cinnamiques et coumarines
- Flavones, flavanols et dérivés
- Chalcones, déhydrochalcones et auronnes
- Anthocyanes

Rodriguez Vaquero *et al.* (2007) (figure 6) les ont subdivisés en flavonoïdes et en non flavonoïdes

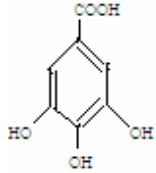
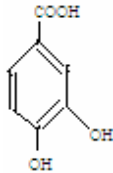
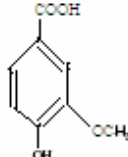
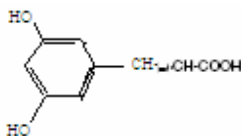
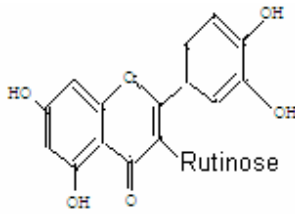
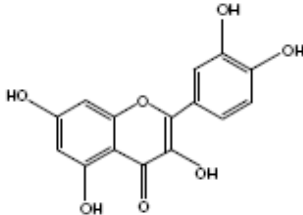
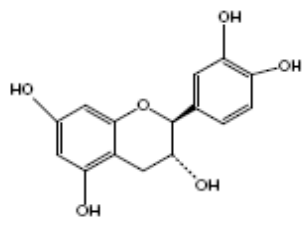
<b>Non flavonoïdes</b>		
<b>Acide hydroxybenzoïque et dérivés</b>		
 <p>Acide gallique</p>	 <p>Acide protocatechuique</p>	 <p>Acide vanillique</p>
<b>Acide hydroxycinnamique et dérivés</b>		
 <p>Acide caféique</p>		
<b>Flavonoïdes</b>		
<b>Flavonols</b>		
 <p>Rutine</p>	 <p>Quercetine</p>	
<b>Flavanols</b>		
 <p>Catéchine</p>		

Figure 6. Classification des polyphénols selon Rodriguez Vaquero *et al.* (2007)

### **II.1.1 Flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent un groupe de composés naturels quasiment universels chez les plantes vasculaires (Harborne et Sherratt, 1961 ; Hasten, 1983) ils forment des pigments responsables de colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Harborne et Sherratt, 1961 ; Middleton *et al.*, 2000). On les rencontre assez souvent dans les fruits, les légumes mais également dans plusieurs plantes médicinales (Cooray *et al.*, 2004).

Ils ont une origine biosynthétique et structurale commune et par conséquent possèdent tous un squelette de base à quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Pietta, 2000 ; Manach *et al.*, 2004). Ils se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes les flavones (Chrysin, apigénine, lutéoline), les flavonols (Kaempférol, quercétine, myricétine), les flavanones (naringénine). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou glycosylée (Bruneton, 1999 ; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs classes selon leur degré d'hydroxylation, méthylation et glycosylation (Harborne et Sherratt, 1961).

Des travaux relatifs aux flavonoïdes se sont multipliés depuis la découverte du « French paradox » correspondant à un taux de mortalité cardiovasculaire faible observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (Nijveldt *et al.*, 2001). Leur propriété antioxydante (Van Acker *et al.*, 1996 ; Harder *et al.*, 1998) ainsi que d'autres effets physiologiques potentiellement intéressants expliquent l'intérêt accru que suscitent ces composés et qui a pris un essor non négligeable ces dernières années (Scalbert et Williamson, 2000).

## **II.1. 2Tanins**

Les tanins sont des polyphénols à haut poids moléculaire présents dans les fruits, l'écorce, les feuilles et les racines de nombreux arbres et arbustes (MC Arthur et Sanson, 1993). Leur structure chimique leur confère une habilité très développée à se complexer avec toutes sortes de polymères naturels essentiellement les protéines (Mangan, 1988). Martin *et al.* (1991) les ont subdivisés en deux grands groupes ; les tanins condensés et les tanins hydrolysables.

Les tanins condensés communément appelés proanthocyanidines possèdent un poids moléculaire élevé (Ribereau-Gayon, 1968) sont capables de libérer des anthocyanidines en milieu acide et en conditions d'oxydation (Roux et Evelyn, 1958 ; Hagerman et Butler, 1981). On les rencontre assez souvent chez les plantes vasculaires telles, les dicotylédones, les gymnospermes et les fougères (Hagerman *et al.*, 1992).

Les tanins hydrolysables quand à eux sont constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifié de l'acide gallique ou un de ses dérivés (Ribereau- Gayon, 1968) sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique (Reed, 1995) retrouvés uniquement chez les dicotylédones (Okuda, 2005).

Il existe une toute autre classe de tanins ; les phlorotanins, c'est des polymères d'unités phloroglucinol (1, 3, 5-trihydroxybenzene) liées via des ponts C-C ou C-O (Stern *et al.*, 1996) rencontrés pour la plus grande proportion dans les algues brunes (Stern *et al.*, 1996 ; Hagerman *et al.*, 1998).

Cet aperçu volontairement succinct évoque des composés actifs présentant des propriétés biologiques bénéfiques à l'homme, démontrés grâce à de nombreuses études épidémiologiques laborieuses.

## **II.2 Interactions polyphénols– protéines**

### **Introduction**

Les composés phénoliques possèdent des propriétés qui sont en grande partie attribuable à leur tendance à interagir entre eux et avec d'autres macromolécules, de manière réversible et irréversible formant des systèmes moléculaires organisés (Baxter *et al.*, 1997). Ces caractéristiques leurs confèrent de nombreux intérêts biologiques exploités notamment par les industries pharmaceutiques et agroalimentaires (Haslem, 1998).

L'une des propriétés la plus déterminante des tanins est leur capacité à former des complexes très stables avec les protéines (Haslem, 1974 ; Ramachandra *et al.*, 1977) ainsi que les glycoprotéines salivaires responsables de la sensation d'astringence (Baxter *et al.*, 1997 ; Haslem, 1998). Plusieurs auteurs rapportent que les polyphénols présentent une affinité beaucoup plus marquée avec les protéines et peptides ayant une proportion élevée en résidus proline (Hagerman, 1980 ; Hagerman et Butler, 1981). Mais depuis quelque années, une autre protéine suscite l'intérêt de plusieurs études ; la sérum albumine bovine (SAB) ou (BSA) (Haslem, 1998 ; Mateus *et al.*, 2004 b).

### **II.2. 1 Interaction des polyphénols avec la Sérum Albumine Bovine (SAB)**

La Sérum Albumine Bovine (SAB) est une protéine soluble, présentant approximativement 60% des protéines totales du plasma sanguin (Carter et Ho., 1994).

C'est une protéine globulaire possédant un poids moléculaire important caractérisée par une proportion relativement élevée en acides aminés chargés. Ce qui lui donne la capacité à transporter certaines substances et molécules bioactives (Cushman et Rizack, 1970). De part son poids moléculaire et son hydrophobicité élevé elle est capable de se lier à plusieurs molécules de polyphénols par rapport à  $\alpha$ -lactalbumin et le lysozyme (Prigent, 2005).

## **II.2.2 Interaction des polyphénols avec les protéines de la salive**

La salive est un fluide aqueux constituée en grande partie par un mélange de protéines riche en proline (PRPs) et des protéines riche en histidine (HRPs) ou histatine (Lu et Bennick, 1998 ; Cai et Bennick, 2006). Ces dernières sont à l'origine de l'astringence provoquant une sensation de sécheresse et de rugosité dans la bouche (Charlton *et al.*, 2002).

Les protéines Riches en Proline (PRPs) sont classées en trois groupes selon leur nature chimique et leur charge caractéristique qui leur attribuent des propriétés basiques ou acides plus ou moins phosphorylées, ou encore glycosylées émanant de leur aptitude à fixer covalamment un groupement carbohydrate (Mehansho *et al.*, 1992 ; Bennick, 2002). Les protéines basiques ont une très forte capacité à fixer les polyphénols (Charlton *et al.*, 1996), cette caractéristique constitue une protection contre le potentiel toxique et carcinogénique des tanins alimentaires (Charlton *et al.*, 2002 ; Simon *et al.*, 2003).

Les protéines Riches en Histidines (HRPs) sont des protéines cationiques riches en histidine avec une proportion moins élevée en résidus lysine et arginine (Wroablewski *et al.*, 2001). Elles ont également l'aptitude à se complexer avec les polyphénols (Baxter *et al.*, 1997 ; Bennick, 2002).

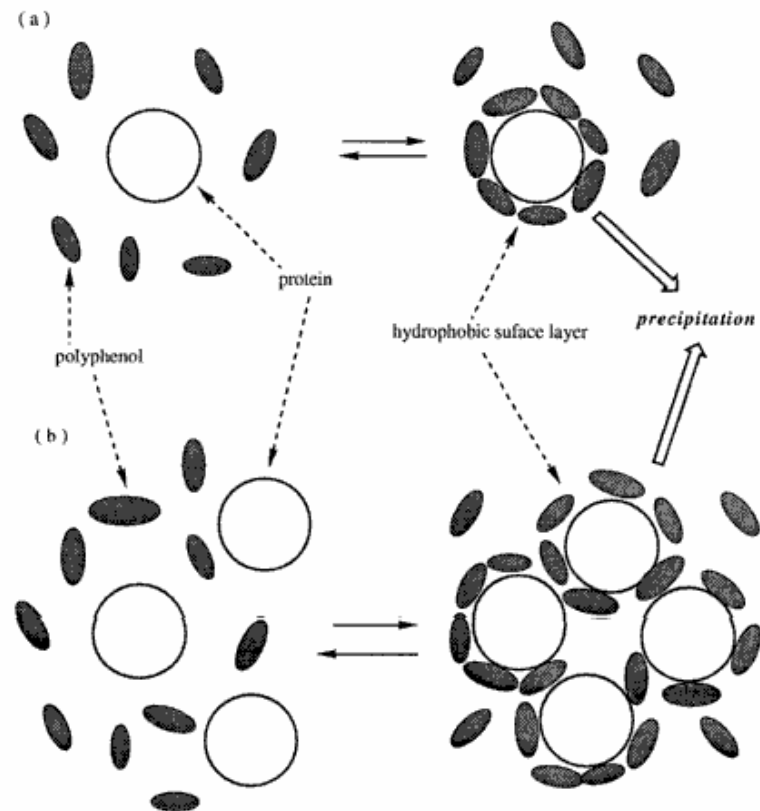
## **II.2. 3 Principe de la complexation**

Plusieurs hypothèses ont été avancées à fin d'expliquer le mécanisme réactionnel polyphénol protéine. Un modèle de complexation a été proposé par Haslam (1998) selon cet auteur la complexation polyphénols protéines s'effectue selon un processus de reconnaissance moléculaire induisant une précipitation.

L'interaction est telle qu'un ou plusieurs tanins fixent la protéine formant une mono couche réduisant son caractère hydrophile. À faible concentration en protéine, les tanins se fixe sur un ou plusieurs sites à la surface de la protéine (interaction multi site) ce qui permet la formation d'une monocouche moins hydrophile induisant l'apparition

d'agrégats (figure 7), en revanche avec une concentration plus élevée les polyphénols acquièrent le rôle d'agents de pontage.

D'après Bennick (2002) à partir d'un certain poids moléculaire ces complexes deviennent trop hydrophobes ce qui peut mené à une précipitation.



**Figure 7.** Mécanisme réactionnel polyphénols- protéines; (a) à faible concentration de protéines, (b) à concentration élevée en protéine (Haslem, 1998)

Cette réaction peut être réversible par l'adjonction de protéines ou d'autres molécules telles les polysaccharides (Haslam, 1998)

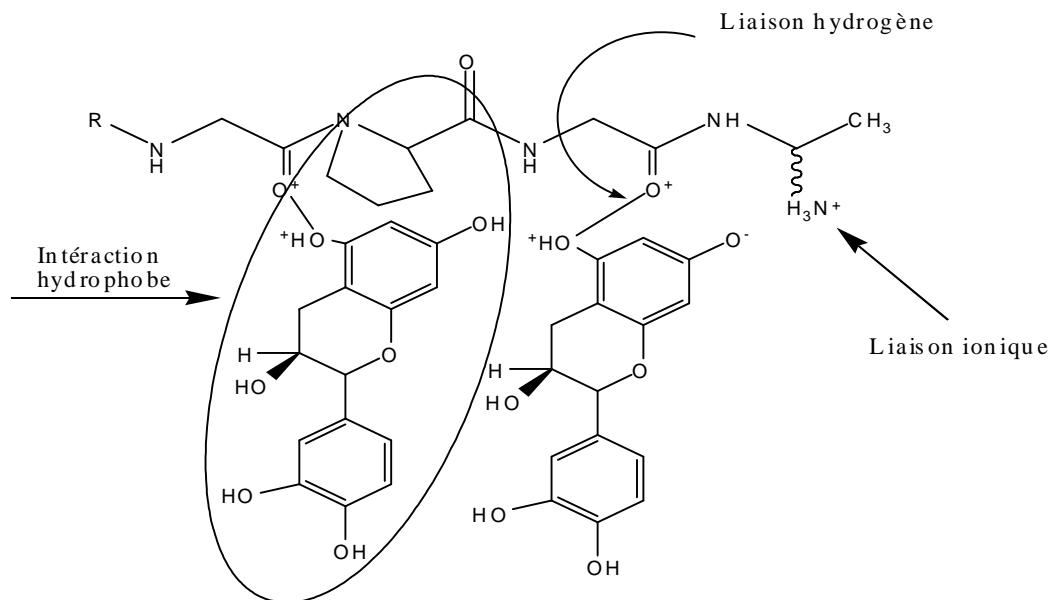
#### II.2. 4 Différentes liaisons mises en jeu

A ce jour, la force majeure de l'interaction n'a pu être élucidé et entre les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes on se contre balance (Bennick 2002 ; Simon,



2003). Selon certains auteurs, ces deux forces auraient un rôle dans l'interaction polyphénols protéines (Jöbstl *et al.*, 2004). Hagerman et Butler (1981) rapportent que les liaisons hydrogène seraient fournies par les fonctions hydroxyles des polyphénols qui forment des liaisons avec les groupements carbonyles des protéines. Richard *et al.* (2001) énoncent que l'empilement hydrophobe des polyphénols sur la proline serait le mode d'interaction majeur.

Considérant la diversité structurale des tanins et les différents groupements fonctionnels présents, trois types de liaisons sont mises en jeu (figure10); interaction hydrophobe, liaison hydrogène et enfin interaction de type ionique (Ezaki-Furuichi *et al.*, 1987)



**Figure 8.** Liaisons mises en jeu dans l'interaction polyphénols protéines (Simon, 2003)

## II.2. 5 Paramètres influençant l'interaction polyphénols- protéines

L'affinité des polyphénols pour les protéines peut être modulée par plusieurs facteurs, il existe des facteurs liés à la nature de la protéine et les polyphénols et des paramètres liés aux conditions réactionnelles (pH, force ionique, solvants) éventuellement la température et même le temps (Hagerman et Butler, 1978 ; de Freitas et Mateus, 2001a).

### **II.2. 5.1. Paramètres liées aux protéines et polyphenols**

A priori, une protéine trop longue a tendance à se replier masquant ainsi les sites de fixation et par voie de conséquence limiter la reconnaissance de certains sites d'interaction entre les polyphénols et les protéines. Néanmoins, cette taille lui permet l'augmentation du nombre de sites potentiels étant donné l'aspécificité de la réaction (Simon, 2003). Il est indéniable que l'augmentation du poids moléculaire des polyphénols favorise la complexation avec les protéines (Ribereau-Gayon, 1968; Shahidi et Nacz, 2003). Simon (2003) rapporte que le nombre et les groupements hydroxyles sur les cycles aromatique pourraient moduler l'interaction polyphenols – protéines, ainsi plus il y a de OH plus l'affinité est importante et donc le nombre d'unités monomériques fait accroître la quantité en hydroxyle.

### **II.2. 5.2. Paramètres liées aux conditions réactionnelles**

#### **II.2. 5.2.1. Influence du PH**

L'interaction polyphenols-protéines est fortement affectée par le pH (Hagerman et Butler, 1978) lui même sensible à la nature des ions présents dans le milieu (Hagerman et Butler, 1981). Selon la littérature, l'affinité des protéines pour les polyphénols augmente sensiblement quand le pH est proche du point isoélectrique de la protéine (Hagerman et Butler, 1978). D'après certains auteurs aux pH isoélectrique la répulsion électrostatique de la protéine est minimisée et par voie de conséquence une précipitation meilleure (Hagerman et Butler, 1981).

#### **II.2. 5.2.2. Effet des carbohydrates**

Plusieurs études ont démontré l'habilité des polysaccharides tels que la pectine, la gomme arabique, xanthane, la cyclodextrines à interagir avec les polyphenols (de Freitas et Mateus, 2001a ; Mateus *et al.*, 2004 a) grâce à des liaisons hydrogènes ou hydrophobes et interférer ainsi d'une manière compétitive avec les protéines dans leur interaction avec les polyphenols (Mateus *et al.*, 2004 a). En effet Haslam *et al.* (1998) ont démontré que

certaines polysaccharides sont capables de développer une structure secondaire en solution formant des poches hydrophobes habiles à s'encapsuler et de complexer les polyphénols.

La liste des facteurs influençant l'interaction polyphénols protéine reste non exhaustive ; la quantité et la taille des complexes polyphénols-protéines dépendent des concentrations de protéines, de polyphénols et du rapport entre les deux molécules (Siebert, 2006). La force ionique du milieu (Bennik, 2002) l'adjonction d'un solvant peut jouer un rôle dans la solubilité des polyphénols (Oh *et al.*, 1980) le solvant agit sur l'association de ces molécules avec les protéines une faible solubilité favorise la fixation des tanins (Simon, 2003). La présence et la nature d'ions (organiques et/ou inorganiques) présente également un effet sur le complexe tannins-protéines de sorte que la présence d'ions inorganiques ( $K^+$ ,  $Na^+$ ) favorise la précipitation de ce complexe (Simon, 2003).

## **II.3 Activité antioxydante**

### **Introduction**

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept celui des antioxydants. Le terme " antioxydant " recouvre un ensemble d'activités diverses ou plusieurs espèces sont habiles à ralentir ou à empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ces molécules, occupent du point de vue biologique une place impressionnante parmi plusieurs recherches menées depuis une dizaine d'années (Ames *et al.*, 1993).

### **II.3. 1 Activité antioxydante des composés phénoliques**

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année une attention et un engouement considérable et plusieurs de leurs propriétés biologiques font l'objet de nombreuses études non exhaustives (Manach *et al.*, 2004 ; Djeridane *et al.*, 2005). Une des raisons primordiales est la reconnaissance de leur propriété antioxydante, ainsi qu'à leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydatif (Akagawa et Suyama, 2001).

Ils ont une valeur commerciale très importante surtout dans le domaine agroalimentaire et pharmaceutique en tant que puissants antioxydants naturels (Mompon *et al.*, 1998) particulièrement les flavonoïdes qui sont des piègeurs efficaces de radicaux libres les plus prooxydants (Meddleton *et al.*, 2000).

### **II.3. 2 Modes d'action des polyphénols**

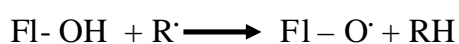
Leur intervention se fait assez souvent à plusieurs niveaux : piégeages de radicaux libres (Saint-Cricq de Gaulejac *et al.*, 1999), chélation de métaux prooxydants par les groupements hydroxyles, et par inhibition de certains enzymes (Pulido *et al.*, 2000).

#### **II. 3. 2.1 Piégeage des radicaux libres**

Les perspectives de recherche sur les polyphénols ce sont associées aux Espèces Oxygénées Réactives (E.O.R), tels peroxydes (ROO<sup>·</sup>), alcoxydes (RO<sup>·</sup>), superoxydes

(O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et hydroxyles (HO<sup>•</sup>) ils peuvent attaquer des cibles bioactives telles les protéines (altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes) glucides, lipides et les acides nucléiques favorisant la survenue de mutations délétères à l'origine de divers cancers (Ames *et al.*, 1993 ; Lee *et al.*, 2004). Ces derniers peuvent apparaître lors du métabolisme oxydatif de l'oxygène, l'anoxie, l'inflammation et l'auto oxydation des lipides (Aurousseau, 2002).

L'interaction des flavonoïdes avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer les éléments majeurs de cette activité antioxydante, ils inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce aux groupements hydroxyles fortement réactifs selon la réaction suivante (Nijveldt *et al.*, 2001).

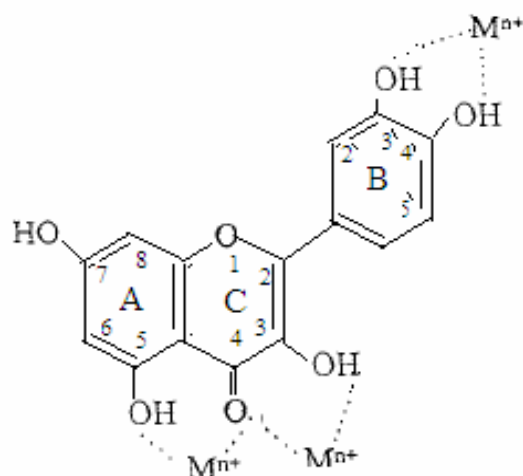


Les radicaux flavonoxy (Fl-O<sup>•</sup>) produits peuvent interagir avec d'autres radicaux pour former des structures plus stables (Marfak, 2003).

### II.3. 2.2 Chélation des ions métalliques

Les polyphénols ont la capacité de chélater les ions métalliques (tels les ions du fer et du cuivre) largués à partir de leur protéine de fixation ou de transport. Ces ions métalliques renforcent les effets nocifs du stress oxydant, en stimulant la production des radicaux hydroxyles (OH<sup>-</sup>) (Pietta, 2000). Ces composés en chélatant les ions métalliques forment des complexes de coordination avec ces métaux en occupant tous les emplacements, et peuvent ainsi convertir les ions métalliques en complexes insolubles empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Lee *et al.*, 2004).

D'après des études réalisées par Van Acker *et al.* (1996) la contribution principale à la chélation des ions métalliques figure (12) est due au noyau catéchol sur le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo de hétérocyclique C, et les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre l'hétérocyclique C et A et on considère la quercétine la plus active des flavonoïdes grâce aux 3 sites de complexation qu'elle possède et qui lui permet de chélater les métaux



**Figure 9.** Chélation des ions métalliques (Rice-Evans, 1999)

### II.3. 2.3 Inhibition des enzymes

Les composés phénoliques sont capables d'affecter et d'inhiber le système enzymatique de nombreux enzymes (Middleton *et al.*, 2000)

La xanthine oxydase est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique elle catalyse la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Nijveldt *et al.*, 2001).

En effet, les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de cette enzyme et par conséquent peuvent faire régresser la maladie de la goutte en réduisant à la fois les concentrations en acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains (Hansaki, 1994). D'autres études ont établies que les polyphénols sont habiles à inactiver entre autre l'histidine décarboxylase, l'aldose réductase, la NADPH oxydase, la protéine kinase C, des enzymes de l'inflammation telles la cyclooxygénase, la lipooxygénase, et la phospholipase A2 (Middleton *et al.*, 2000 ; Derbel et Ghedira, 2005)

### II.3.3 Méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante

La mesure du potentiel antioxydant et le suivi des processus d'oxydation sont abordés globalement en déterminant des produits résultant de l'oxydation par des techniques photométriques ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels.

### II.3.3.1 Tests mesurant l'inhibition de l'oxydation des lipides

L'oxydation est une réaction rapide qui se propage en cascade (Rolland, 2004) sa maîtrise est donc capitale afin de gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, et l'efficacité d'un antioxydant en général peut être estimée par son aptitude à inhiber l'oxydation d'un substrat approprié (Marc *et al.*, 2004).

Le premier mode nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation tels les hydroperoxydes et les peroxydes et leur quantification s'effectue par des techniques photométriques plus ou moins directes. Ou bien par l'incorporation d'un antioxydant à une huile, lipide ou un modèle de substrat tel que l'acide linoléique ou le linoléate de méthyle, après incubation l'activité antioxydante s'exprime par le taux d'inhibition de la formation des hydro peroxydes (Miller, 1971 ; Manian *et al.*, 2008).

### II.3.3. 2 Tests évaluant l'effet «scavenger» sur les radicaux libres

Un éventail de techniques ont été développés afin d'estimer l'activité antioxydante en mesurant l'aptitude des antioxydants à exercer un effet «scavenger» sur les radicaux libres.

#### III.4.2.1 Effet «scavenger» sur les radicaux cationiques ABTS<sup>•+</sup>

Dans cette méthode l'effet «scavenger» des antioxydants est déduit par leurs capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'acide 2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique (l'ABTS) (Gil *et al.*, 2000 ; Pellegrini *et al.*, 2003) en présence d'une enzyme de peroxydation (peroxydase met myoglobine, ou en présence de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). La formation du radical ABTS<sup>•+</sup> se traduit par une coloration bleue verte dont l'intensité diminue par la présence d'un piègeur de radicaux ABTS<sup>•+</sup> (Prior *et al.*, 2000).

#### II. 3. 3.2.2 Effet «scavenger» sur les radicaux cationiques DMPD<sup>•+</sup>

Le test de *NN*-dimethyl-*p*-phenylene diamine (DMPD) est analogue à celui de l'ABTS en présence d'une solution oxydante (FeCl<sub>3</sub>) et à pH acide, le DMPD est transformé en un

radical cationique  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  coloré (Fogliano *et al.*, 1999). La présence d'un antioxydant habile à transférer un atome d'hydrogène au radical  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  entraîne la décoloration de la solution de façon proportionnelle à la concentration et à la capacité de l'antioxydant. Il existe un autre test mesurant la capacité d'un antioxydant à piéger les radicaux libres en utilisant le radical stable  $\text{DPPH}^{\bullet}$  (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) qui est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène (Marc *et al.*, 2004).

Autres méthodes peuvent être citées telles la mesure du pouvoir réducteur qui met en avant la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron. Le test de la chélation des ions  $\text{Fe}^{2+}$  quand à lui met en avant la capacité d'une molécule à fixer les ions  $\text{Fe}^{2+}$ . Les ions  $\text{Fe}^{2+}$  jouent un rôle important lors de la production des radicaux libres notamment lors de la réaction de Fenton qui survient à chaque fois qu'une molécule d' $\text{H}_2\text{O}_2$  est en contact avec les ions  $\text{Fe}^{2+}$  et qui est à l'origine de la production des radicaux hydroxyl (OH) un des radicaux les plus réactifs. Le fer joue aussi un rôle dans la phase de propagation de la lipoperoxydation ainsi que dans la formation du radical  $\text{O}_2^-$  (Huang, *et al.*, 2005).



## **II. 4. Activité antibactérienne**

### **Introduction**

L'Homme a de tout ère, cherché et exploité des panacées à base de plante susceptibles d'opérer des modifications une fois employées (Zouhdi *et al.*, 1997). Leurs mérites sont attribués entre autre à des nutriments ou phytonutriments dotés de plusieurs propriétés biologiques et pharmacologiques bénéfiques (Cowan, 1999 ; Ferreira de Lima *et al.*, 2006).

L'organisation mondiale de la santé « OMS » certifie que les plantes médicinales sont constituées d'une panoplie de molécules caractérisées par des structures riches, complexes et variées par conséquent elles devraient être étudiées intensivement afin de mieux comprendre leurs propriétés et leurs efficacités (Nascimento *et al.*, 2000).

Parallèlement l'intérêt est de plus en plus affirmé pour l'utilisation des plantes dans des domaines non alimentaires, et le fait que les antibiotiques traditionnels sont devenus inopérants (Hernandez *et al.*, 2004 ; Zampini *et al.*, 2005) a ouvert une porte à de nouveaux débouchés et axes de recherches sur des antimicrobiens et d'autres remèdes dérivants des plantes (Papadopoulou *et al.*, 2004 ; El- Fatimi *et al.*, 2007).

### **II.4. 1 Activité antibactérienne des composés phénoliques**

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes, est souvent corrélée avec leur teneur en métabolites secondaires tels les polyphénols (Baharun, 1997). Plusieurs études épidémiologiques et cliniques attestent le rôle incontestable des composés phénoliques dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes voir même toxiques, fongicides et antibiotiques (Mompon *et al.*, 1998 ; Drewnowski et Gomez-Carneros, 2000). Ces métabolites secondaires peuvent conduire à la diminution de l'activité enzymatique ainsi qu'à la croissance microbienne (Karou *et al.*, 2004).

Choi *et al.* (2006) signalent que les composés phénoliques sont même habillés à neutraliser des toxines bactériennes grâce à plusieurs travaux entrepris ces dernières années.

D'après Cowan (1999) les acides caféique et cinnamique sont très efficaces contre les virus, les bactéries et les champignons. Les propriétés antibactériennes des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont été mises en évidence (Miller *et al.*, 1995 ; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001) ils atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire de plusieurs virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (Middleton *et al.*, 2000). Quant aux tanins plusieurs travaux ont démontré leurs toxicités vis à vis des champignons filamenteux, levures et bactéries et certains d'entre eux sont même capables d'inhiber la réplication de quelques virus (Henis *et al.*, 1964 ; Scalbert, 1991).

#### **II.4. 2 Modes d'action des polyphénols**

Le mécanisme d'action des composés phénoliques est sans doute très complexe et plusieurs hypothèses ont été avancées afin d'élucider leur activité contre de nombreux microorganismes parmi elles ; l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes (protéases, et des carbohydrases), la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou chélation de métaux (tels que le fer), et l'inhibition du métabolisme microbien (Cowan 1999 ; Scalbert, 1991).

##### **II.4.2. 1 Action sur les membranes cellulaires**

Les polyphénols s'adhèrent à la surface de la membrane plasmique et pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne, inactivent certaines enzymes tels les perméases qui sont impliquées dans le transport de substrats (aminoacides et des polysaccharides) ce qui peut par voie de conséquence entraîner une modification de la perméabilité cellulaire, induisant à la lyse de la cellule bactérienne (Lojkowska et Holubovska, 1992).

Plusieurs études rapportent que les flavonoïdes lipophiles sont à l'origine de la rupture de la membrane bactérienne ce qui confirme l'idée que leur cible est bien la membrane bactérienne (Cowan, 1999). Tsuchiya et Iinuma (2000) restituent que la sophoraflavanone G isolée d'une plante médicinale réduit la fluidité de la membrane cellulaire bactérienne.

#### **II.4. 2.2 Action sur les enzymes**

Les composés phénoliques sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de nombreuses enzymes (Cowan, 1999). Ils sont capables de se complexer avec les protéines et par voie de conséquence bloquer les sites actifs des enzymes inhibant ainsi leur activité (Haslem, 1998 ; Huang *et al.*, 2004).

Tout comme les tanins condensés les tanins hydrolysables ont la capacité de se complexer avec les protéines. Ce processus peut inhiber et/ou immobiliser les enzymes microbiennes extracellulaires (Maie *et al.*, 2003). Ohemeng *et al.* (1993) ont pu identifier 14 composés flavonoïques de structure variable capable d'inhiber *in vitro* l'ADN gyrase d'*Escherichia coli*. Jones *et al.* (1994) signalent que les tanins condensés inhibent l'activité enzymatique des protéases.

#### **II.4.2. 3 chélation des métaux**

Les composés phénoliques peuvent limiter la croissance des bactéries grâce à leur capacité à chélater le fer, ce dernier est un nutriment indispensable à la survie des microorganismes. Il joue un rôle important dans plusieurs fonctions y compris sa nécessité pour la respiration et pour la synthèse de l'ADN (Akiyama *et al.*, 2001).

Daud *et al.* (2005) dénotent que la présence des ions  $Mg^{2+}$  dans le milieu, diminue la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* contre l'extrait de *Phrygilanthus acutifolius* qui est d'après eux, est liée à la capacité des cations bivalents à stabiliser la membrane externe des bactéries à gram négative.

#### **II.4.2. 4 Action sur le métabolisme énergétique**

Les composés phénoliques sont capables de chélater les ions métalliques largués à partir de leur protéine de fixation ou de transport. Haraguchi *et al.* (1998) rapportent que deux type de flavonoides (licochalcone A et C) sont capables d'inhiber l'activité de *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus*, mais inactifs vis-à-vis d' *Escherichia coli* selon ces auteurs, ces groupes de flavonoides s'avèrent de puissant inhibiteur de la NADH-cytochrome *c* réductase empêchant ainsi la consommation de l'oxygène par conséquent le métabolisme énergétique.

## **Objectifs de l'étude**

Un des objectifs spécifique de cette étude est de tester certaines activités biologiques des extraits phénoliques (activité antioxydante, antibactérienne et l'interaction polyphénols- protéines) à cet égard des prétraitements préalables ont été effectués sur les feuilles des différentes plantes sélectionnées avant de procéder aux analyses. Nous présentons ci-après les principales étapes établies depuis la récolte jusqu'à l'obtention d'un extrait aqueux.

## **I. Matériel Végétal**

Dans ce présent travail cinq plantes ont été soigneusement choisies d'après des enquêtes ethnobotaniques, établies auprès des personnes ayant certaines connaissances en médecines traditionnelles ainsi qu'à leurs traditions et croyances et on s'est éventuellement basé sur la littérature comme il est important qu'avant d'entreprendre une quelconque investigation phytochimique d'une espèce végétale donnée d'effectuer des recherches approfondies.

## **II. Récolte des plantes et identification**

Les différentes plantes sélectionnées ont été collectées dans leur habitat naturel. La récolte des feuilles a été effectuée d'une manière aléatoire, les informations relatives au lieu et la date de prélèvement sont illustrées d'une manière succincte (annexe1).

L'indentification des différentes espèces étudiées à était effectué par Mr BOUADAM enseignant en physiologie végétale, université de Abderahmane Mira Bejaia

## **III. Traitement des échantillons**

### **III.1. Prétraitements**

#### **III.1.1. Séchage**

Aussitôt après sa collecte, le matériel végétal préalablement débarrassé de toute poussières et toute autres impuretés, lavé abondamment avec de l'eau distillée et séché dans une étuve à une température 40°C pendant une période variant de 5 à 7 jours selon la nature de la plante .

Afin de déterminer la teneur en humidité des différentes plantes étudiées, un test a été réalisé selon la norme Française (NF V04 - 407), sur des échantillons représentatifs de 1g (10fois) 10g et 100g, portés à l'étuve à une température de 103°C pendant 4heures, et la teneur en eau a été déterminée comme suit :

$$\text{Teneur en eau \%} = \frac{M_a - M_p}{M_a} * 100$$

$M_a$ : Matière végétal avant traitement

$M_p$ : Matière végétal après traitement

### **III.1.2. Broyage et Tamisage**

Les feuilles précédemment séchées sont broyées. Cette étape est fastidieuse sa réalisation doit être minutieuse et non dénaturante pour permettre l'obtention d'une poudre végétale fine et homogène. Les poudres obtenues sont tamisées avec des tamis à différente granulométrie (500, 250, 125, 63, 53 et 45  $\mu\text{m}$ ) dans le but de récupérer la poudre la plus fine. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées à l'abri de la lumière.

### **III.2. Extraction**

Afin d'extraire les principes actifs des plantes testées, une extraction de type solide liquide (Macération) a été utilisée avec un solvant polaire méthanol pur à (99%) à température ambiante selon le protocoles décrit par Owen et Johns, (1999) avec quelques modification :

200 mg de poudre des différentes plantes ont été dissous dans 500 ml méthanol pur à (99%), le mélange à été soumis à une agitation mécanique durant une semaine à température ambiante et à l'abris de la lumière.

Après filtration, le filtrat obtenue est concentré au rota vapor à 40°C, l'extrait obtenu est quantifié comme suit :

$$\text{Taux de l'extrait (\%)} = \frac{M_1 - M_0}{M_2} \times 100$$

$M_0$ : Poids du cristalliseur vide (g)

$M_1$ : Poids du cristalliseur après évaporation (g)

$M_2$ : Masse de la poudre (g)

Les extraits obtenus sont par la suite reconstitués avec le méthanol

## IV. Etude phytochimique

### IV.1. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif Folin Ciocalteu, consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions formés à partir d'hétéropolyacides phosphomolybdiques ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphotungstiques ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Ce dernier oxyde les phénols en ions phénolates en milieu alcalin et réduit partiellement ces hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe molybdotungstique bleu (Wen Rehaba, 2001).

La coloration bleuâtre obtenue est proportionnelle à la quantité de phénols présents (Ribéreau-Gayon, 1968).

- **Solution d'essai** : Un aliquote d'extrait aqueux de plante est dilué dans le méthanol
- **Mode opératoire**

La détermination de ces composés est réalisée selon la méthode décrite par **Owen** et **Johns** (1999) avec quelques modifications :

Un volume d'extrait aqueux est porté au bain marie pendant 5 à 10mn à 50°C, un volume de cette solution préalablement filtrée est additionné de 11,25ml d' $H_2O$  distillée et 0,25ml de Folin Ciocalteu à (1N), ajouté  $Na CO_3$  (200g/l) après agitation de 3mn. Après incubation à l'abris de la lumière pendant 1heure, la lecture est réalisée au moyen d'un spectrophotomètre (UV-Visible) à une longueur d'onde de 740 nm après avoir réaliser un balayage de 800 -400 nm.

Les concentration en composées phénoliques sont déterminées en se referant à une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique

### IV. 2. Dosage des polyphénols polaires

L'estimation en composés phénoliques polaires des extraits méthanoliques est basée sur le même principe que celui des polyphénols totaux.

- **Solution d'essai** : Un aliquote d'extrait de plante est dilué dans le méthanol
- **Mode opératoire**

La méthode utilisée est celle **Owen** et **Johns**, (1999) avec quelques modifications :

Un volume d'extrait de plante est centrifugé à 3500 t/m pendant 15 mn, incubé pendant 24h à température ambiante.

1,25 ml du surnagent est additionné à 0,25ml Folin Ciocalteu (2N) ajouté 0,75ml de Na CO<sub>3</sub> (200g/l) après 5 mn. Incubé à l'obscurité pendant 2h et à température ambiante et réalisé une deuxième centrifugation à 6000t/mn pendant 15mn.

La quantité en composées phénoliques polaires est déterminée selon une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique à une longueur d'onde de 750nm.

#### IV. 3. Détermination des polyphénols apolaires

Le taux en polyphénols apolaires est déterminé comme suit :

$$T_{PT} = T_{PO} + T_{PA} \quad \longrightarrow \quad T_{PA} = T_{PT} - T_{PO}$$

#### IV. 4. Détermination des flavonoides

La majorité des dérivés flavoniques naturels possèdent des groupements (OH) libre en position C<sub>3</sub> et C<sub>5</sub> susceptibles et de l'oxygène en C<sub>4</sub> de former des complexes de couleur jaunâtre en présence de chlorure aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (Ribéreau-Gayon, 1968)

- **Solution d'essai** : un aliquote d'extrait de plante est dilué dans le méthanol
- **Mode opératoire**

L'estimation des flavonoides contenus dans les extraits de plantes est déterminée selon le protocole décrit par Bahorun *et al.* (1996).

Un volume d'extrait de plante est additionné de 1ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (à 2 %). La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 430 nm et la quantité en flavonoides totaux est déterminée en se referant à une courbe étalon établie avec de la quercétine.

#### IV. 5. Détermination des tanins

L'une des caractéristiques la plus déterminante des tanins est leur habilité à former des complexes très stables par précipitation avec des polymères essentiellement les protéines (Mangan, 1988).

La protéine utilisée dans cette méthode; la sérum albumine bovine (SAB) qui réagit avec les tanins en milieu acide et en présence de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) (en milieu alcalin : SDS/TEA) formant des chélates de couleur violette (Hagerman et Butler, 1989 ; Hagerman *et al.*, 1992).



- **Mode opératoire**

La quantification des tannins est déterminée selon le protocole décrit par Hagerman et Butler, (1978) avec quelques modifications :

Un volume d'extrait aqueux de plante est additionné à 1ml de la solution BSA (1mg/ml), agité et incubé pendant 24h à 4C°.

Après centrifugation à 14000t/mn pendant 15mn le précipite récupéré est ajouté à 2ml de la solution de sodium dodecyl sulfate/ triethanolamine (SDS /TEA), effectué une première lecture à 510 nm ( $A_1$ ) agité et additionné  $FeCl_3$  (1ml). La deuxième ( $A_2$ ) lecture est effectuée à une longueur d'onde à 510 nm. La lecture finale due aux tanins est calculée comme suit :  $A_{\text{tanins}} = A_2 - A_1$

La teneur en tannin est déterminée selon une courbe établie avec de l'acide tannique

## **V. Étude de certaines activités biologiques des extraits de plantes testées**

### **V.1. Interaction polyphénols protéines (BSA)**

Dans cette étude l'effet du pH, la force ionique du milieu et la concentration des extraits polyphénoliques ont été testés, sur le mécanisme réactionnel protéines polyphénols, la densité optique de la solution est mesurée au moyen d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde maximale de 420 nm.

#### **V.1.1 Etude de la densité optique en fonction de la concentration des extraits phénoliques**

Pour pouvoir étudier ce phénomène, une protéine standard; la Sérum Albumine Bovine (BSA) a été choisie.

- **Solution d'essai** : Utilisation dans toute cette deuxième partie la même concentration de la (SAB) pour tous les extraits, un témoin est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol.
- **Mode opératoire**

La méthode utilisée est celle de Naczki *et al.* (1996) avec quelques modifications :

Une solution de (BSA) (pH=6,9) (1mg/L), est mise en contact avec différentes concentrations (0,25- 2 mg/ml) des extraits de plante à raison de 1 mL pour chaque solution.

La lecture de la densité optique est effectuée à 420 nm après incubation à 37°C pendant une heure.

### **V.1.2 Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en NaCl**

- **Mode opératoire**

L'influence de la concentration en NaCl sur la formation du complexe polyphénols-BSA, est réalisée selon la méthode décrite par de Freitas *et al.* (2003) avec quelques modifications :

Un volume d'extraits de plantes (1mg/ml) est additionné de 1mL de la solution de BSA (1mg/ml), additionné de 1ml de la solution de NaCl à concentrations variables (0,01-0,1M)

La mesure de la densité optique est réalisée à 420 nm après une heure d'incubation à 37°C, contre un témoin préparé dans du méthanol.

### **V.1.3 Etude de la densité optique en fonction du pH**

- **Mode opératoire**

La méthode utilisée dans cette étude est celle de de Freitas et Mateus (2001b) avec quelques modifications :

Des solutions d'extraits de plante sont préparées dans des tampons à différent pH (2,5 à 7,5) additionné de 1 mL de la solution de BSA (1 mg/mL).

La lecture de la densité optique est réalisée à 420 nm après une heure d'incubation à 37°C, contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol.

## **V.2. Etude de l'activité antioxydante**

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant sont fondées sur la détermination de produits résultant de l'oxydation, ou au contraire en mesurant l'efficacité d'une substance à piéger les radicaux. Pour évaluer cette propriété deux méthodes sont utilisées; la méthode d'évaluation de la capacité scavenger au radical DPPH et le pouvoir réducteur du fer.

### **V.2.1. Activité scavenger au radical DPPH'**

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense (Parakash, 2001). Ce dernier perd sa coloration native quand t'il se lie avec des substances antioxydantes, qui lui transmet des électrons ou des protons et la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pale (Gadow *et al.*, 1997 ; Gordon, 2001 ). Le virage vers cette coloration et l'intensité

de la décoloration découle de la nature, de la concentration et la puissance des principes actifs présents (Kroyer, 2003 ; Es Safi *et al.*, 2007).

- **Solution d'essai** : Testé les cinq extraits de plante à plusieurs concentrations (78 – 100 µg/ml)
- **Mode opératoire**

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plante a été estimée selon la méthode décrite par Balasuhdram *et al.* (2005) avec quelques modifications :

100µl d'extrait de plante est additionné à un volume d'une solution méthanolique DPPH (0,2mM), mélangé au vortex et incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 30mn. La lecture de l'absorbance est réalisée à 515nm.

Un control est préparé en parallèle en remplaçant l'échantillon par une solution méthanolique DPPH. De même différentes concentrations d'extraits de plantes et des antioxydants de synthèse (quercetine et acide ascorbique) ont été préparés pour tester leurs effets sur le pouvoir antiradicalaire.

Le % d'inhibition du radical est donné par l'équation suivante :

$$\text{Le \% d'inhibition du DPPH} = (A_c - A_e / A_c) \times 100$$

$A_c$ : Absorbance du control

$A_e$ : absorbance de l'échantillon

### V.2.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réduction est l'aptitude des antioxydants à réduire le fer ferrique en fer ferreux (Blazovics *et al.*, 2003). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Balasuhdram *et al.*, 2005)

- **Solution à tester** : Testé plusieurs concentrations (20- 80µg/ml) des extraits de plantes ainsi que des antioxydants de synthèse (quercetine, BHA et acide ascorbique)
- **Mode opératoire**

L'étude du pouvoir réducteur des plantes est estimée selon la méthode décrite par Huang *et al.* (2006) avec quelques modifications :

Un aliquote d'extrait de plante est ajouté à 1,25ml de tampon phosphate (0,2M pH= 6.6) et à 1,25ml de ferricyanure de potassium ( $K_3 F_2 (CN)_6$ ) à 1%, incubé à 50°C pendant 20mn à l'abri de la lumière et additionné 1,25ml de l'acide trichloracétique à

10%. Centrifugé à 3000t/mn pendant 10mn et prélevé 2,5ml du surnageant puis ajouté 2,5ml d'H<sub>2</sub>O distillée et 0,5ml de Chlorure ferrique (0,1%). Le mélange homogénéisé préalablement est incubé pendant 10mn à l'abri de la lumière l'absorbance est lue à 700nm.

### V.3. Etude de l'activité antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de plantes la méthode utilisée repose sur la diffusion des extraits à partir de disques sur un milieu solide. Les résultats sont exprimées par l'apparition d'une zone d'inhibition au tour des disques, plus la zone est grande plus la sensibilité des souches est élevée.

- **Solution à tester** : Tester un aliquote des différents extraits de plante vis-à-vis de 4 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*), qui ont été isolées à partir de prélèvement de la matière fécale et des crachats des malades collectés au niveau de deux laboratoires médicaux.
- **Mode opératoire**

La méthode utilisée dans cette étude est celle décrite par Kuete et *al.* (2006) avec quelques modifications :

Une suspension bactérienne de 18 à 24 heures de chaque souche a été préparée dans de l'eau distillée stérile après leur revivification et isolement. Cette suspension est diluée jusqu'à l'obtention d'une opacité de Mac Ferland 0,5 ( $10^8$  UFC/ml correspondant à une DO de 0,1 à 600 nm), puis diluée au 1/100 pour avoir un inoculum de  $10^6$  UFC/ml.

1ml de l'inoculum est étalé uniformément à la surface de la gélose de Mueller-Hinton (MH). Des disques en papier de 6 mm de diamètre préalablement imprégnés de 25µl des différents extraits méthanoliques (2mg/ml) sont déposés dans des boîtes de pétri inoculées et l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Des disques témoins sont préparés en remplaçant les extraits par le méthanol. Après 24 heures d'incubation mesuré le diamètre des zones d'inhibition autour des disques.

## **VI. Etude statistique**

Pour pouvoir traiter les résultats obtenus, une étude statistique a été réalisée en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) test LSD (Least Significant Difference) et test  $t$  à l'aide d'un logiciel STATISTICA 5.5.

## Résultats et discussions

### I. Traitement des échantillons

#### I.1. Teneur en humidité séchage des feuilles

Les résultats de la teneur en humidité des plantes étudiées sont regroupés dans le tableau ci après :

**Tableau II.** Tableau représentant la teneur en eau des différentes plantes étudiées

	Teneurs en humidité (%)		
	1g	10g	100g
<i>C. siliqua</i>	53,63±0,44 <sup>d</sup>	54±0,816 <sup>d'</sup>	53±0,816 <sup>d''</sup>
<i>C. monogyna</i>	58,2±0,86 <sup>c</sup>	59±0,816 <sup>c'</sup>	57±0,816 <sup>c''</sup>
<i>F. excelsior</i>	72±0,816 <sup>b</sup>	73±1,08 <sup>b'</sup>	71±2,09 <sup>b''</sup>
<i>Q. coccifera</i>	44,43±1,67 <sup>e</sup>	42,9±0,94 <sup>e'</sup>	46,9±0,37 <sup>e''</sup>
<i>U. dioica</i>	78,1±1,49 <sup>a</sup>	77±1,22 <sup>a'</sup>	79,4±1,25 <sup>a''</sup>

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,001)

\* Chaque valeur représente la moyenne± écart type (n = 3)

Les teneurs en eau oscillent d'une plante à une autre de 44 à 78% ce qui montre le caractère hygroscopique des plantes étudiées.

Le taux le plus élevé en humidité est observé chez les espèces *U. dioica* et *F. excelsior* 78,1± 1,4988, 72±0,816 respectivement et diffèrent significativement des trois autres plantes qui sont moins riches en eau. L'analyse statistique effectuée indique qu'il n'existe aucune différence significative (p<0,001) concernant la variation de la teneur en humidité des plantes à 1g, 10g et 100g.

Les résultats obtenus pour l'espèce *U. dioica* sont en accord avec ceux établies par Guil-Guerrero *et al.* (2003) qui confirment la richesse de cette plante en eau. Makkar et Singh (1991) retrouvent une teneur en humidité au niveau des feuilles de *Quercus incana* plante de la même espèce que *Q. coccifera* un résultat similaire.

Certains auteurs rapportent que les cellules végétales renferment des enzymes susceptibles de modifier les composés phénoliques, en particulier les polyphénols oxydases et les glycosidases via des réactions (brunissements enzymatiques) qui conduisent à la transformation importante des composés natifs tels les hétérosides complexes et l'apparition de nouvelles structures (hétérosides plus simples). Le séchage contribue ainsi à la conservation de la plante en préservant son intégrité biochimique sans modification importante en inhibant certaines activités enzymatiques (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Chang *et al.*, 2000 ; Fintelmann et Weiss, 2004).

## I.2. Rendement en extrait sec

Les feuilles préalablement séchées à 40°C ont été broyées et tamisées afin d'obtenir une poudre fine ( $D < 45 \mu\text{m}$ ) utilisée pour l'extraction des polyphénols contenus dans les plantes étudiées.

Afin d'extraire les principes actifs (polyphénols) contenus dans les plantes une extraction de type solide liquide (macération) avec un solvant polaire (méthanol à 99%) est utilisée. Le méthanol est un solvant polaire qui extrait le plus de classes de composés phénoliques et présente l'avantage d'être éliminé facilement sous vide (Ribéreau-Gayon, 1968).

Les résultats du rendement en extrait sec sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau III.** Rendement en extrait sec des différentes plantes étudiées

<b>Rendement en extraction</b>	
<b>Plantes</b>	<b>Extrait sec (%) m/m</b>
<i>C. siliqua</i>	47,5
<i>Cr. monogyna</i>	42,5
<i>F. excelsior</i>	45
<i>Q. coccifera</i>	32,5
<i>U. dioica</i>	34

Les rendements en extractions varient entre 40 et 30 %. L'espèce *C. siliqua* représente la plante avec le taux d'extraction le plus élevé, elle est suivie par les espèces *Cr. monogyna*, *F. excelsior*, *U. dioica* et enfin par l'espèce *Q. coccifera*.

Très peu de travaux sont entrepris sur les feuilles de l'espèce *C. siliqua*, toutefois d'après une étude effectuée par Balaban (2004) sur le bois de cette plante révèle un taux de 15,41% utilisant méthanol-eau comme solvant pour l'extraction. Skerget *et al.* (2005) obtient 28% utilisant le méthanol pour l'extraction des polyphénols au niveau *Crataegus laevigata* plante de la même espèce *Cr monogyna*.

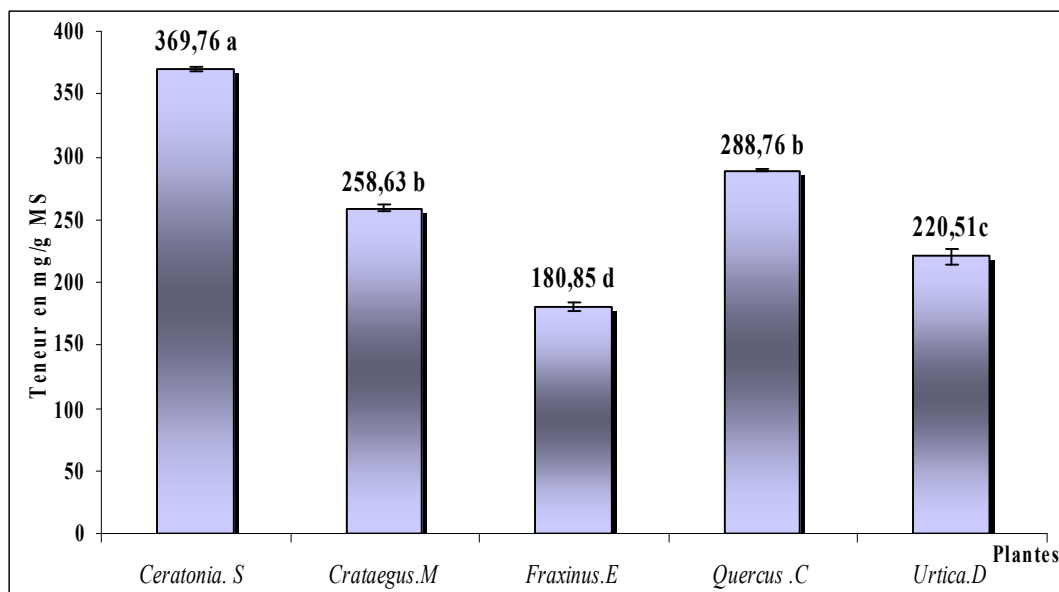
Hayouni *et al.*, (2007) retrouvent un rendement beaucoup plus faible au niveau des feuilles de l'espèce *Q. coccifera* utilisant l'eau, chloroforme et l'acétone comme solvant d'extraction.

Les rendements en extrait sec obtenus sont dans l'ensemble élevés et varient d'une plante à une autre, cette variation émane probablement du degré de polymérisation des polyphénols ainsi qu'à leur tendance à se combiner avec des macromolécules tels les protéines, polysaccharides et autres molécules qui rendent l'extraction délicate (Mompon *et al.*, 1996 ; Naczki et Shahidi, 2006).

## II. Etude phytochimique

### II. 1 Dosage des polyphénols totaux

Les résultats de la quantification des polyphénols totaux sont illustrés sous forme d'histogramme ci-dessous :



**Figure 10.** Teneur en polyphénols totaux des extraits de plantes

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,001$ ),

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 3$ )



Les résultats obtenus indiquent, que l'espèce *C. siliqua* représente la plante avec le taux le plus important en polyphénols totaux avec  $369,76 \pm 1,3183$  mg d'EAG/g MS, suivit par les espèces *Q. coccifera*, *Cr. monogyna* et *U. dioica* avec ( $288,76 \pm 1,1269$  mg d'EAG/g MS); ( $258,63 \pm 2,5983$  mg d'EAG /g MS); ( $220,51 \pm 5,8407$  d'EAG mg/g MS) respectivement et enfin l'espèce *F. excelsior* avec  $180,85 \pm 3,4042$  mg d'EAG /g MS. L'analyse statistique révèle l'existence de différence significative entre les plantes ( $p < 0,001$ ) quant à leurs teneurs en polyphénols totaux à l'exception des deux plantes *Q. coccifera*, *Cr. Monogyna*

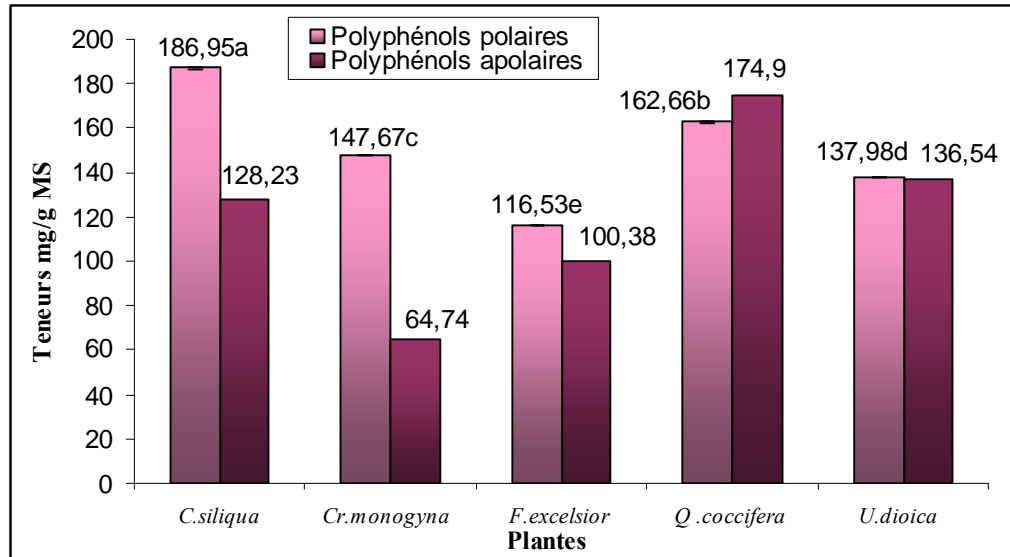
L'espèce *C.siliqua* possède la teneur la plus élevée en polyphénols totaux. Corsi, (2002) retrouve au niveau des extraits aqueux de feuilles de cette plante un taux plus faible (6,28mg/g). Le résultat obtenu pour la quantification des polyphénols concernant l'espèce *Q. coccifera* indique un taux accru similaire à ceux obtenus par Ben Salem (2003) ce qui confirme sa richesse en ces composés.

Bahourn (1997) obtient au niveau des feuilles et les boutons floraux de l'espèce *Cr. monogyna* un taux plus important en polyphénols par rapport aux autres parties de la plante. Boullard (2001) et Egan *et al.* (2004) rapportent que les feuilles de *F. excelsior* sont d'excellentes sources de polyphénols ce qui confirme les résultats obtenus dans cette présente étude.

Les plantes étudiées diffèrent quand à leurs teneurs en composés phénoliques, cette divergence de résultats est probablement tributaire au matériel végétal utilisé dérivant de la grande diversité structurale des composés phénoliques, conduisant à la variabilité des propriétés physicochimiques rendant impossible une présentation unique et générale d'une technique d'extraction et de quantification des polyphénols (Mompon *et al.*, 1996) elle peut être également liée aux solvants employés, aux conditions climatiques, phases végétatives et même aux surfaces de cultivations (Farrukh *et al.*, 2006).

## II.2. Dosage des polyphénols polaires et détermination des polyphénols apolaires

Les résultats de la quantification en polyphénols polaires et l'estimation des polyphénols apolaires sont représentés sous forme d'histogramme :



**Figure 11.** Teneur en polyphénols polaire et apolaire des plantes

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,001$ )

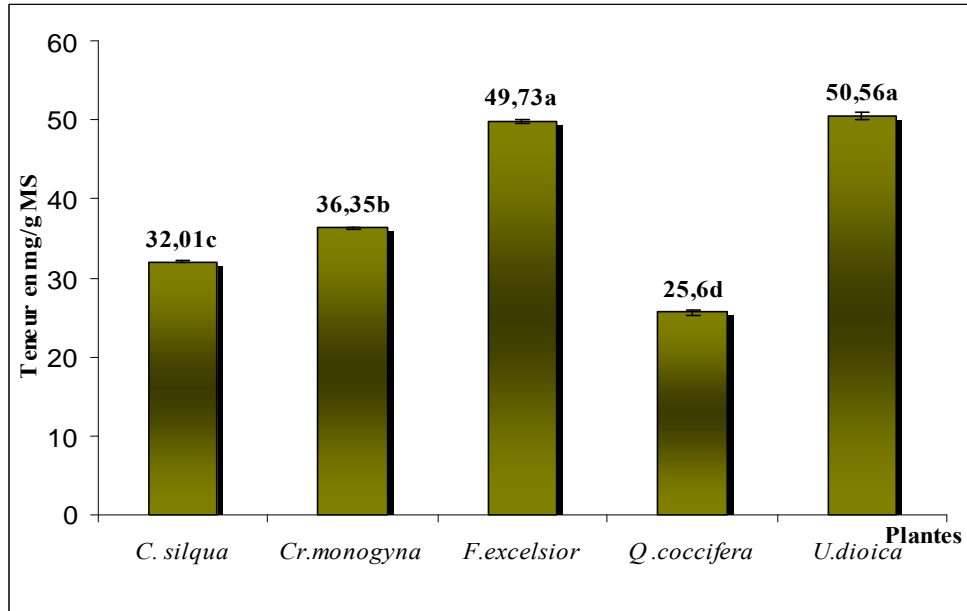
\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 3$ )

Les proportions en polyphénols polaires et apolaires obtenues varient respectivement entre 186,95 à 116,5mg/g MS et entre 174,9 à 64,74 mg/g MS. D'après la figure (11) la teneur en polyphénols polaires est beaucoup plus importante que celle des polyphénols apolaires et l'analyse statistique révèle une différence significative ( $p < 0,001$ ). Cette différence provient probablement de la nature hydrophile des extraits polyphénoliques des feuilles des plantes étudiées.

Très peu de travaux sont réalisés concernant la détermination des polyphénols polaires et apolaires des feuilles des plantes étudiées. Owen et Johns, (1999) retrouvent au niveau des feuilles de plantes de la même famille que l'espèce *C. siliqua* et *F. excelsior* des teneurs en polyphénols polaires plus importante que celle des polyphénols apolaires.

### II.3. Détermination des flavonoïdes

La figure ci après représente les résultats de la quantité des flavonoïdes des plantes étudiées :



**Figure 12.** Teneur en flavonoïdes des différents extraits phénoliques

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,001$ )

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 3$ )

L'espèce *U. dioica* et *F. excelsior* représentent les deux plantes avec la teneur la plus importante  $50,56 \pm 0,4189$  mg EQ /g MS et  $49,73 \pm 0,1963$  mg EQ /g MS alors que l'espèce *Q. coccifera* présente la plante avec le taux le plus faible  $25,6 \pm 0,3138$  mg EQ/g MS. L'analyse statistique révèle l'existence de différence significative entre les plantes ( $p < 0,001$ ).

À l'issue de la détermination des flavonoïdes, les résultats obtenus concernant l'espèce *U. dioica* concordent avec ceux établis par Pourmorad *et al.* (2006) qui confirment la richesse de cette plante en ces composés. Wichtl et Anton (2003) révèlent l'existence de grande quantité de flavonoïdes (3-glucosides, et 3-rutinisides du quercétol, du kaempférol, et de l'isorhamnétol).

À l'image des travaux effectués sur l'espèce *Cr. monogyna* *in vivo* et *in vitro*, il est avéré qu'elle soit très intéressante tenant compte de ses propriétés biologiques (Fintelmann et Weiss, 2004 ; Sokol-Letowska *et al.*, 2006). Les résultats obtenus dans

cette étude sont en corrélation avec ceux établies par Jakstas *et al.* (2004) qui reconnaissent la richesse de l'espèce *Cr. monogyna* en flavonoides. L'analyse du profil qualitative des feuilles de cette espèce révèle la présence principalement de l'hyperoside (galactoside du quercétol) ainsi que des flavones glycosylés (vitexine, vitexine-2 rhamnoside, et son dérivé, le 4-acétyl du rutoside et du piréoside et de proanthocyanidols (Skerget *et al.*, 2005 ; Svedstrom *et al.*, 2006).

Le criblage phytochimique de l'espèce *F. excelsior* permet l'affirmation de sa richesse en flavonoides. Meusinger (2006) authentifie la présence de fraxine ; un dérivé de coumarine glycoside, elle contient également de le rutoside, catéchine et épicatechine et une faible quantité en coumarine (fraxoside hydrolysable en fraxétol) (Kostova et Iossifova, 2007).

El Allagui *et al.* (2006) ont obtenus à partir d'un extrait méthanolique des feuilles de l'espèce *C. siliqua* un taux de 9,8mg/g de flavonoïdes. Pourmorad *et al.* (2006) obtiennent une teneur plus élevée ( $57 \pm 5,4$ mg/g) dans un extrait méthanolique d'une espèce appartenant à la même famille que cette plante.

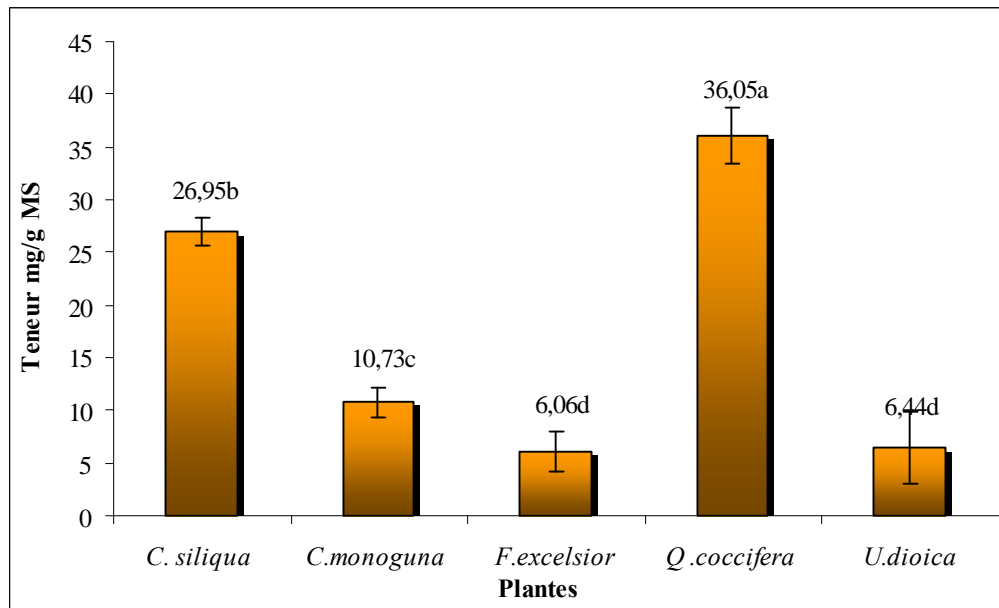
Cette différence dans la quantification des flavonoïdes est probablement liée à leur diversité structurale (Bahorun *et al.*, 2004). Où ils se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides (Pietta, 2000 ; Heim *et al.*, 2002).

#### **II.4. Détermination des tanins**

L'insolubilité des protéines par les tanins a été exploitée dans un panel analytique par Hagerman et Butler (1978) qui se sont basés sur les caractéristiques des polyphénols et leur aptitude à se complexer avec les protéines.

La protéine utilisée dans cette étude est la sérum albumine bovine (SAB) protéine de référence souvent employée pour mesurer la réactivité des tanins (Mateus *et al.*, 2004 b). Sa dissolution dans un tampon phosphate à pH 4,9 permet une meilleure précipitation de la protéine, sachant que sa solubilité diminue quand elle se rapproche de son point isoélectrique (BSA pHi= 4,9 à 5) (Haslam, 1998)

Les résultats de la quantification des tanins sont représentés dans la figure ci après :



**Figure 13.** Teneur en tanins des extraits méthanoliques

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,001$ )

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 3$ )

L'espèce *Q. coccifera* représente la plante la plus riche en tanins avec  $36,05 \pm 2,692$  mg EAT/g MS, elle est suivie par l'espèce *C. siliqua*  $26,95 \pm 1,3504$  mg EAT/g MS, et l'espèce *F. excelsior* représente la plante avec la teneur la plus faible en tanin avec  $6,06 \pm 1,9324$  mg EAT/g MS. Les variations de la teneur des tanins entre ces plantes sont significatives ( $p < 0,001$ )

La teneur en tanins obtenue dans les feuilles de l'espèce *Q. coccifera*, est en concordance avec ceux établis par Ben Salem *et al.* (2005) qui reconnaissent la richesse de cette plante quant à sa teneur en tanins, Ito et ses collaborateurs en (2002) ont isolé au niveau de ses feuilles des tanins hydrolysables appelés cocciferine D2.

Silanikove *et al.* (1994) authentifient la présence de tanins dans les feuilles de l'espèce *C. siliqua*. Owen et Johns (1999) en étudiant les composés bioactifs de certaines plantes médicinales détectent la présence de  $14,64$  mg/g chez l'espèce *U. dioica*, et retrouvent au niveau d'une plante de la même espèce que *F. excelsior* un taux très important en tanin dont les teneurs diffèrent largement de celles obtenues dans cette étude.

Les résultats de la quantification des tanins varient d'une plante à une autre cette fluctuation diffèrent selon l'espèce, l'âge de la plante, la saison et le climat.

Mole et Waterman (1988) suggèrent que la synthèse des polyphénols induite par la lumière conduit à une plus grande capacité à précipiter les protéines. En examinant le feuillage du chêne Makkar *et al.* (1991) constatent que le contenu des polyphénols et leur capacité à précipiter les protéines sont beaucoup plus importants chez le jeune feuillage et que la teneur en tanins condensés augmente avec la maturation des feuilles. Makkar et Becker (1998) retrouvent une teneur plus élevée en tanins au niveau des plantes Africaine par rapport à celles des collines de l'Himalaya et d'après ces auteurs la disponibilité de l'eau et d'autres facteurs tels la maturité des feuilles sont à l'origine de cette divergence.

### **III. Étude de certaines activités biologiques des extraits phénoliques des différentes plantes**

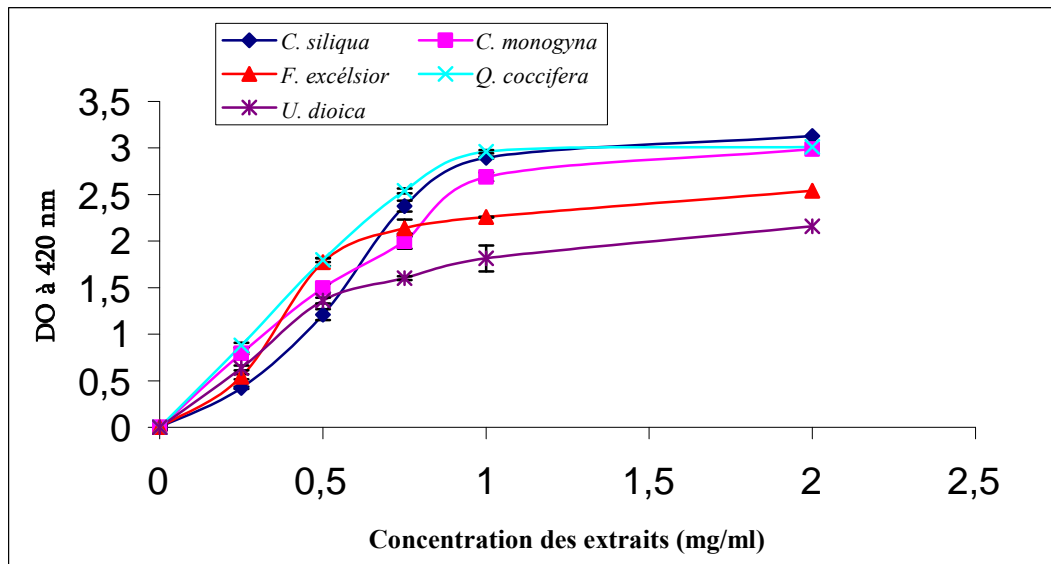
Plusieurs activités biologiques des extraits phénoliques; interaction polyphénols protéine, antioxydante et antibactérienne ont été évalué

#### **III.1. Étude de l'interaction polyphénols protéines (BSA)**

Sachant que le complexe polyphénols et protéines formés est dépendant de plusieurs facteurs dans cette étude nous avons testé l'effet de la concentration des polyphénols sur ce complexe, la force ionique ainsi que le pH

##### **III.1.1. Etude de la densité optique en fonction de la concentration des extraits phénoliques**

À l'issue de la mise en contact de différentes concentrations d'extraits de plantes avec la sérum albumine bovine (SAB), il y a eu formation d'un trouble natif au complexe polyphénols protéines son intensité diffère d'une plante à une autre. Les résultats de la densité optique en fonctions des concentrations des extraits phénoliques sont représentés ci-dessous :



**Figure 14.** Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n = 3)

Les courbes obtenues montrent que la densité optique (DO) est proportionnelle aux concentrations des extraits de plante et présente une allure hyperbolique ressemblant à l'isotherme de Langmuir.

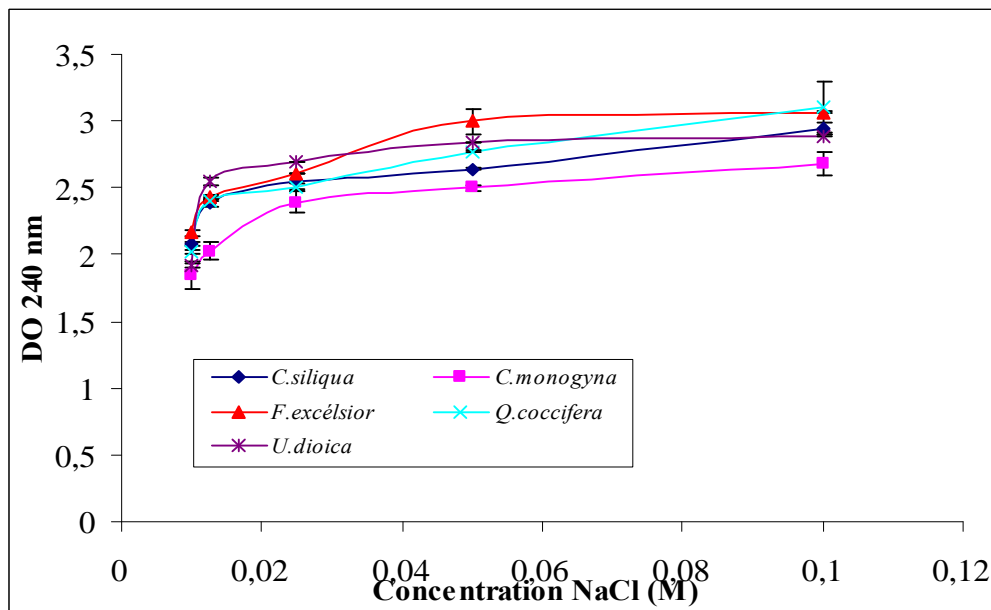
D'après la figure (14) la densité optique des espèces *C. siliqua*, *Q. coccifera* et *Cr. monogyna* augmente jusqu'à 1mg/ml ou elle tend à se stabiliser, alors que pour les espèces *U. dioica* et *F. excelsior* s'accroît légèrement puis elle tend à partir de 0,75mg/ml à stabiliser.

Charlton *et al.* (2002) expliquent que lorsque il y'a adjonction de polyphénols dans le milieu il y a formation de liaisons hydrophobes réversibles, en augmentant la concentration en polyphénols le complexe devient insoluble induisant l'apparition d'agrégats et par voie de conséquence une précipitation (Mateus *et al.*, 2004 a).

La taille du complexe polyphénols protéines dépend des concentrations et du rapport protéine/polyphenol, et le fait d'une évolution légère et une stabilisation à un moment donné s'explique par une saturation des sites actifs présents sur la protéine par les polyphénols (Bennick, 2002).

### III.1.2. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en NaCl

Les résultats de l'influence de la force ionique sur la formation du complexe protéines polyphénols, sont illustrés dans la figure ci après



**Figure 15.** Variation de la densité optique en fonction de la force ionique

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n = 3)

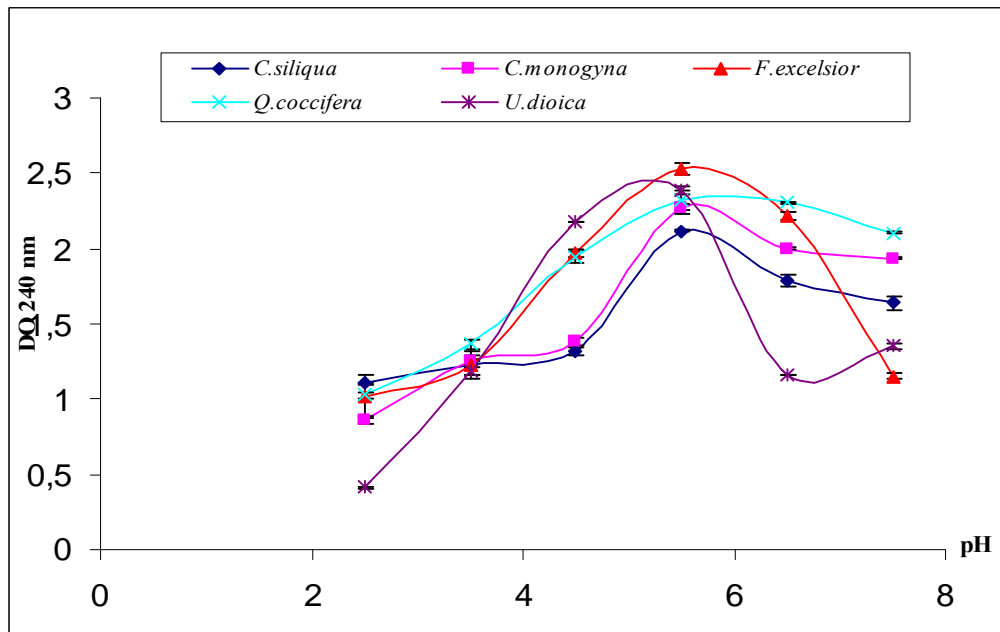
Les résultats obtenus de l'évaluation de l'effet de la force ionique sur le complexe tanin protéine indiquent que la DO est très faible entre 0,01-0,0125M ce qui implique que la force ionique ne présente aucun effet sur le complexe protéines polyphénols à faible concentrations en NaCl. À partir de 0,025M la DO augmente légèrement et tend à se stabiliser. À force ionique élevée la charge globale de la protéine s'élève par les ions qui réduisent les répulsions électrostatiques entre les protéines, on assiste alors à un relargage (précipitation des protéines) ce qui par voie de conséquence diminue leur solubilité (de Freitas *et al.*, 2003 ; Simon, 2003).

### III.1.3. Etude de la densité optique en fonction du pH

La complexation polyphénols protéines peut être éventuellement influencé par le pH. (Hagerman *et al.*, 1992 ; Haslam, 1998 ; Mateus *et al.*, 2004 b).

Les résultats de l'effet du pH sur le complexe polyphénols protéines sont représentés dans la figure suivante :





**Figure 16.** Variation de la densité optique en fonction du pH

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n = 3)

D'après la figure (16), à faible pH (< 3,5) la DO ne varie presque pas pour les plantes étudiées, à pH >3,5 on décèle une augmentation de la DO à l'exception pour l'espèce *C. siliqua* et l'espèce *Cr. monogyna* ou l'élévation débute à partir de 4,5. La DO est maximum à 5,5 ou l'on observe un pic pour toutes les plantes et elle diminue à partir de 6,5 à l'exception pour l'espèce *U. dioica* ou on remarque une légère augmentation.

Hagerman *et al.* (1981) suggèrent que la SAB, le collagène et la pepsine, sont des protéines globulaires précipitant à des pH allant de 3 à 5 alors qu'elle est maximale à des pH supérieur à 8 pour le lysozyme.

Généralement une protéine présente une solubilité minimum au pH isoélectrique de telles conditions provoqueraient la perte des charges des protéines résultant de la diminution de la répulsion électrostatique.

### III.2. Etude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante exprime l'aptitude d'une molécule donnée à réduire les radicaux libres.

### III.2.1. Activité scavenger au radical DPPH

La technique du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est l'une des méthodes la plus couramment employée (Elmastas *et al.*, 2006 ; Lo Scalzo, 2008). Elle est rapide, facile à mettre en œuvre et s'effectue à température ambiante ce qui permet l'élimination de tout risque de dégradation thermique des molécules testées (Katalinic *et al.*, 2005 ; Muchuweti *et al.*, 2006).

Après l'ajout de la solution méthanolique DPPH (fraîchement préparé) après 30mn une dissipation de la couleur violette a été observée et pratiquement tous les extraits méthanoliques de plantes ont réagi positivement au test antiradicalaire. Les résultats du pouvoir antiradicalaire des extraits de plantes étudiées exprimé en pourcentage sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau IV.** Tableau résumant les résultats du test d'inhibition du radical DPPH

Plantes	Pouvoir antiradicalaire (%)
<i>C. siliqua</i>	27,31±0,37 <sup>e</sup>
<i>Cr.monogyna</i>	37,06±0,15 <sup>c</sup>
<i>F.excelisior</i>	60,91±0,55 <sup>b</sup>
<i>Q.coccifera</i>	26,47±0,63 <sup>e</sup>
<i>U.dioica</i>	61,04±0,86 <sup>b</sup>
Acide ascorbique	63,02±1,51 <sup>a</sup>
Quercetine	61,67±0,1 <sup>d</sup>

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,001)

\* Chaque valeur représente la moyenne± écart type (n = 3)

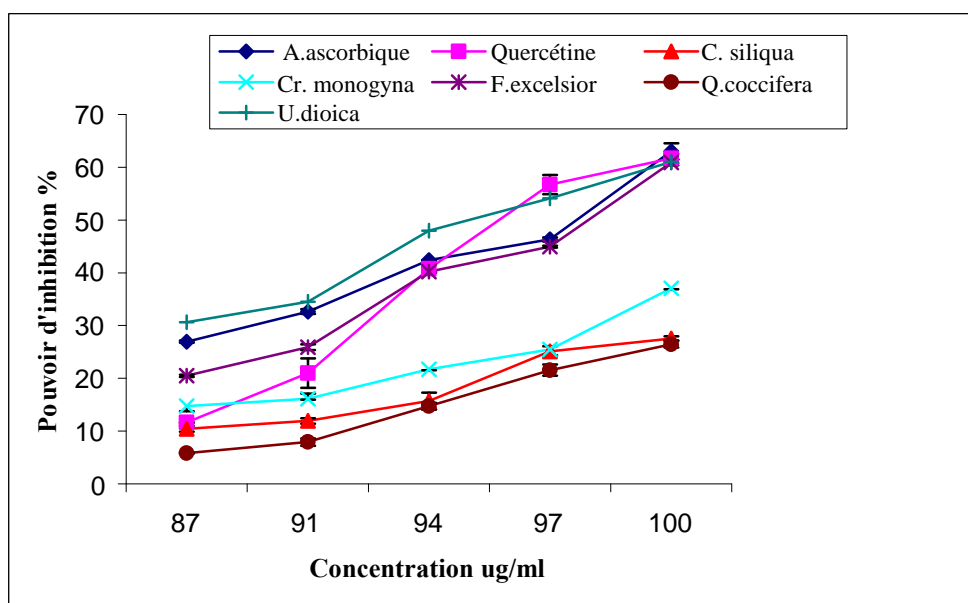
Le pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques des plantes étudiées varis entre 26,47±0,63 à 61,04±0,86%, néanmoins toute les plantes présente la capacité à piéger le radical DPPH et différent significativement (p<0,001) d'une plante à une autre.

L'acide ascorbique et la quercetine présente les antioxydants synthétique avec les taux les plus forts à piéger le radical DPPH ils sont suivis par l'espèce *U.dioica* et l'espèce

*F.excelisior* en suite et l'espèce *Cr.monogyna* et enfin les espèces *C. siliqua* et *Q.coccifera*.

### III.2.2 Effet de la concentration sur le radical DPPH

Le profil d'activité antiradicalaire de chaque extrait testé vis-à-vis du radical DPPH est illustré dans la figure 18 (les résultats sont exprimés en pourcentage)



**Figure17.** Pouvoir antiradicalaire en fonction des concentrations des extraits de plantes

\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n = 3)

D'après les résultats obtenus le pouvoir antiradicalaire est proportionnel à la concentration des extraits cela va de soit pour la quercétine et l'acide ascorbique (antioxydants de synthèse). Plus en augmente la concentration des extraits plus cette activité s'élève et cette élévation diffère significativement ( $p < 0,001$ ) d'une plante à une autre et suit l'ordre décroissant suivant : *U.dioica* > *F.excelisior* > *Cr.monogyna* > *C. siliqua* > *Q.coccifera*.

Dans cette étude, l'espèce *U. dioica* possède le pouvoir inhibiteur au radical DPPH' le plus fort par rapport aux autres plantes étudiées mais moins important comparant à la quercetina et l'acide ascorbique. Ce qui est en accord avec des résultats obtenus par Gulçin *et al.* (2004 a) et Pourmorad *et al.* (2006) sur des études effectuées dans cette optique ceci reflète une activité antioxydante très attrayante liée éventuellement d'après ces auteurs aux composés polyphénoliques présents dans cette plante. Des

études antérieures réalisées sur des extraits méthanolique de l'espèce *U. dioica* indiquent la présence de certains composés flavoniques (Rutine, isoquercetine, 4-Methoxy isoquercetin) responsables d'une très grande activité antiradicalaire (Wichtl et Anton, 2003).

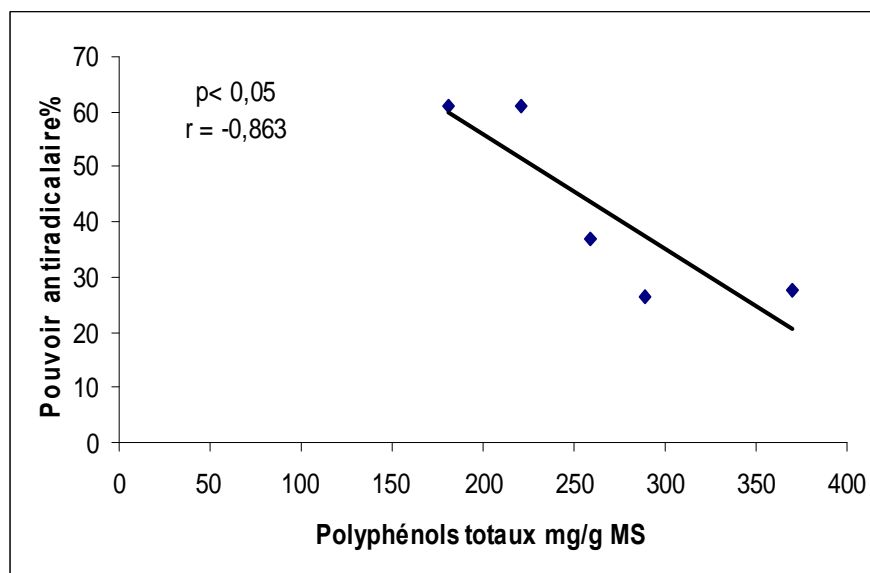
Les résultats obtenus concernant *F. excelsior* indiquent une activité antiradicalaire assez importante ce qui est en accord avec ceux établies par Kostova et Iossifova (2007) qui ont montré au cours de leurs études sur des extraits alcooliques de *F. excelsior* une activité antioxydante intéressante. La littérature attribue cette propriété à leurs compositions en flavonoïdes principalement en fraxine (Whang *et al.*, 2005).

Plusieurs travaux *in vitro* ont pu démontré l'activité antioxydante des feuilles de l'espèce *Cr. monogyna* (Bahorun *et al.*, 1994 ; Zuo *et al.*, 2006) et d'après Bahorun *et al.* (1994) l'aubépine d'usage traditionnel est connue par sa richesse en polyphénols (flavonoïdes, proanthocyanidines, catéchines et acides phénoliques) qui sont actuellement très étudiés en raison de leur activité antioxydante.

Peu d'études sont réalisés concernant l'activité antioxydante des feuilles de l'espèce *C. siliqua*, Makris et Kefalas (2004) en évaluant l'activité antiradicalaire des d'extraits méthanoliques de cosses de caroube obtiennent un pouvoir antioxydant assez intéressant.

L'espèce *U. dioica* possède le potentiel antiradicalaire le plus important alors qu'elle ne représente pas le taux le plus accru en polyphénols totaux par rapport à l'espèce *C. siliqua* qui en contre partie dispose d'une teneur très élevée mais un pouvoir d'inhibition assez faible.

D'après les résultats obtenus ce n'est pas forcément la plante qui dispose d'une quantité importante en polyphénols totaux qui détient le pouvoir antioxydant le plus fort. La corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et le pouvoir antiradicalaire est présentée en figure 18.



**Figure 18.** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'activité antiradicalaire des extraits de plantes

D'après la figure ci-dessus un facteur de corrélation négatif est obtenu ( $r = -0,863$ ). De nombreux chercheurs soutiennent l'hypothèse d'une éventuelle relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques, décrivant ainsi le rapport probable structure-activité entre eux (Velioglu *et al.*, 1998 ; Pulido, *et al.*, 2000 ; Katalinic *et al.*, 2006) alors que certains auteurs avancent d'autres hypothèses (Heinonen *et al.*, 1998 ; Javanmardi *et al.*, 2003 ; Matkowski et Piotrowska, 2006).

Kahkonen et ses collaborateurs en (1999) ont montré au cours de leurs travaux effectués sur l'évaluation de l'activité antioxydante de 92 extraits de plantes contenant des composés polyphénols une corrélation très faible. L'explication la plus rationnelle à cette anomalie est l'éventuelle appartenance de ces molécules à de différentes classes de polyphénols. Ces classes possèdent probablement des forces antioxydantes variables ainsi qu'un effet synergique émanant des liaisons existantes entre eux et/ou des composants présents dans les extraits de plantes pouvant contribuer à cette activité (Muchewuti *et al.*, 2006). Ainsi, l'activité antioxydante d'un extrait ne peut être prévue sur la base de son contenu phénolique total.

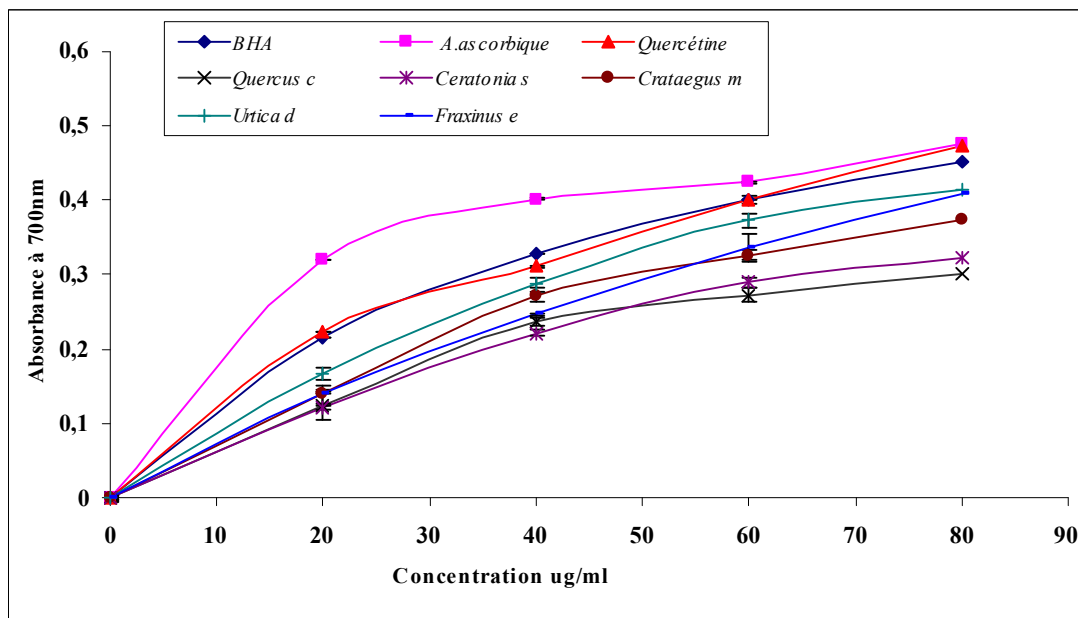
### III.2.3. Pouvoir réducteur

Afin de mieux rationaliser cette activité, et confirmer, le potentiel antioxydant des plantes étudiées, un autre test a été utilisé, la réduction du ferricyanure de potassium. Les courbes obtenus montrent, que l'absorbance augmente avec l'élévation des

Concentrations cela peut s'expliquer par la présence probable de composés (antioxydants) pouvant allouer des électrons réduisant ainsi le  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . La couleur jaune du ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleu vert dont l'intensité est attribuable au pouvoir réducteur de chaque extrait de plante.

En études le pouvoir réducteur de certaines plantes, plusieurs auteurs confirment l'élévation de ce potentiel avec l'augmentation des concentration des échantillons à analysé (Gulçin *et al.*, 2005).

La figure ci contre représente le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques et de la quercétine BHA et acide ascorbique en fonction de leurs concentrations



**Figure 19.** Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des plantes

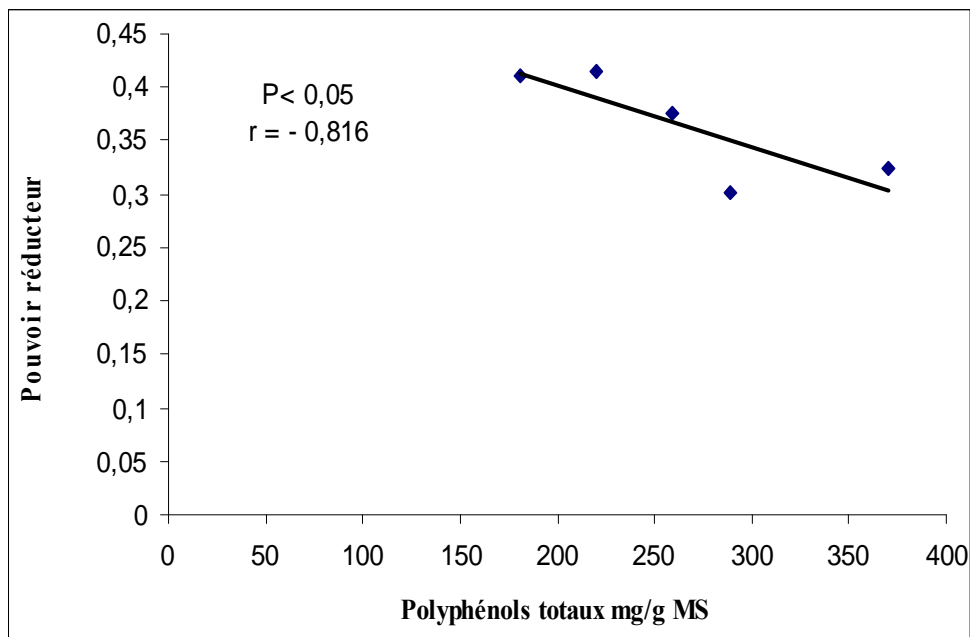
\* Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n = 3)

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques et de la quercétine, BHA et l'acide ascorbique (antioxydants de synthèse) s'élève avec l'augmentation des concentrations et l'analyse statistique révèle un potentiel réducteur qui diffèrent significativement entre les plantes ( $p < 0,001$ )

L'analyse de la figure indique que le pouvoir réducteur des extraits de plantes suit l'ordre croissant suivant : *Q.coccifer* < *C. siliqua* < *Cr.monogyna* < *F.exelsior* < *U.dioica*.

Les espèces *U. dioica*, *F. excelsior* et *Cr. monogyna* détiennent un pouvoir réducteur important par rapport aux autres plantes étudiées mais moins important comparant à la quercétine, l'acide ascorbique et le BHA. Ce qui indique une activité antioxydante très opérante des plantes étudiées par leur neutralisation des radicaux libres et formation de composés plus stables.

Un coefficient de corrélation négatif ( $r=-0,816$ ) est obtenu entre cette classe d'antioxydants et leur pouvoir réducteur figure (20).



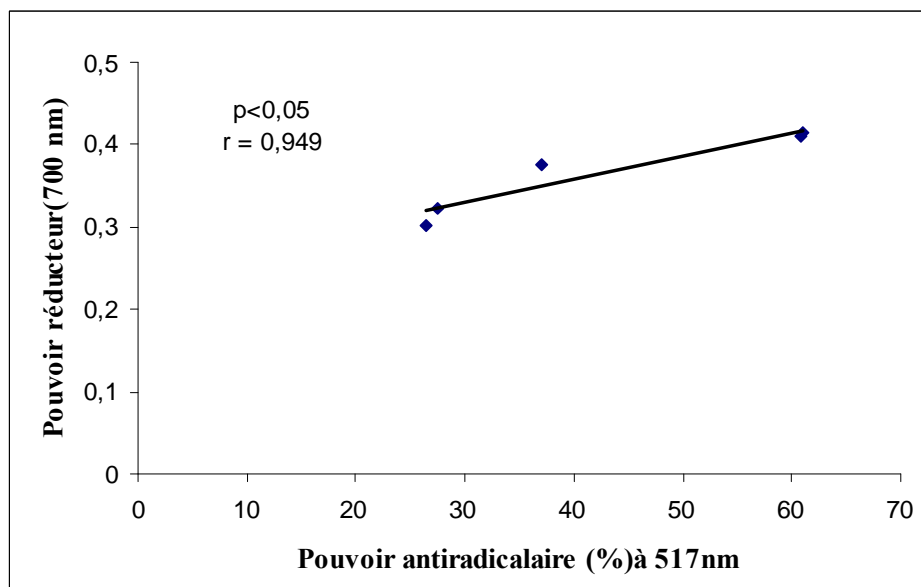
**Figure 20.** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques totaux et le pouvoir réducteur des extraits de plantes

Certains auteurs signalent qu'un pouvoir réducteur accru émane d'autres composés n'appartenant pas à la classe des polyphénols pouvant eux aussi contribuer à l'augmentation de cette activité tels l'acide ascorbique, les tocophérols, les vitamines, (Pulido *et al.*, 2000 ; Javanmardi *et al.*, 2003) ainsi que les groupements glycosylés substantiels des flavonoides qui eux en revanche détiennent un potentiel antioxydant moins important comparé aux aglycones (Kahkonen *et al.*, 1999 ; Heim *et al.*, 2002 ; Cai *et al.*, 2006)

Plusieurs techniques ont été répertoriées afin d'évaluer cette activité elles sont fondées sur la détermination des produits résultant de l'oxydation, ou au contraire par la

mesure de l'efficacité d'une substance à piéger les radicaux, souvent en donnant une forme H<sup>•</sup> (Kahkonen *et al.*, 1999 ; Marc *et al.*, 2004 ).

Une corrélation significative (r= 0,94) figure (21) est obtenu entre le procède de l'inhibition du radical DPPH et celui du pouvoir réducteur ce qui peut s'expliqué par la présence d'antioxydants putatifs ayant à la fois un potentiel réducteur et une activité antiradicalaire.



**Figure 21.** Corrélation entre le pouvoir réducteur et antiradicalaire des extraits de plantes

#### III.4 Etude de l'activité antibactérienne

Plusieurs techniques peuvent être employé afin d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne, dans cette étude la méthode utilisée est celle des disques. Elle est basée sur la diffusion des extraits à partir des disques sur un milieu solide, la présence d'un halo au tour des disques reflète le degré d'inhibition, plus la zone d'inhibition est grande plus la sensibilité des souches est élevée.

Les résultats de la recherche *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de plantes, vis-à-vis des souches bactériennes sélectionnées, sont représentés en photographie annexe (4), le tableau représente les résultats des effets antibactériens des extraits de plantes.



**Tableau V.** Activité antibactérienne déterminée par la méthode des disques

E. coli : *Escherichia coli*, S. aureus : *Staphylococcus aureus*, K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*, P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

Plantes Bactéries	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) <sup>a</sup>				
	<i>C. siliqua</i>	<i>Cr.monogyna</i>	<i>F.excelsior</i>	<i>Q.coccifera</i>	<i>U.dioica</i>
E. coli	3,66±0,235 <sup>b</sup>	6,16±0,235 <sup>a</sup>	2,66±0,471 <sup>c</sup>	1,16±0,235 <sup>d</sup>	3,16±0,235 <sup>c</sup>
S. aureus	0,33±0,471 <sup>c</sup>	5,83±0,623 <sup>a</sup>	2,16±0,235 <sup>b</sup>	0,83±0,235 <sup>c</sup>	5,66±0,471 <sup>a</sup>
K. pneumoniae	1,16±0,235 <sup>c</sup>	5,16± 0,235 <sup>a</sup>	1,16±0,235 <sup>c</sup>	2,16±0,235 <sup>b</sup>	7±0,408 <sup>a</sup>
P. aeruginosa	0,66±0,235 <sup>c</sup>	5,66±0,471 <sup>a</sup>	2,66±0,471 <sup>c</sup>	0,83±0,235 <sup>c</sup>	6±0,408 <sup>a</sup>

\* les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05) \*

\* Chaque valeur représente la moyenne± écart type (n = 3) \*

a : Le diamètre d'inhibition obtenu (à 2mg/ml) sans inclure celui du disque en papier (6mm)

La sensibilité des souches varie d'une plante à une autre et les proportions des diamètres d'inhibitions oscillent entre 0,5 et 6mm.

D'après les résultats les plantes étudiées présentent toutes un effet inhibiteur vis-à-vis d'*E. Coli*, et *K. pneumoniae*, en revanche l'inhibition contre *S.aureus* et *P.aeruginosa* n'est observé que chez *Cr.monogyna*, *F. excelsior* et *U. dioica*, et l'analyse statistique révèle une différence significative (p<0,05).

Les travaux menés par Gulçin *et al.* (2004a) concordent avec les résultats obtenus dans cette étude indiquant que, l'extrait méthanolique de l'espèce *U. dioica* possède une activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, en revanche peu de travaux ont été réalisés concernant son activité contre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dont l'activité est non négligeable.

La majorité des travaux réalisés sur cette plante indiquent qu'elle est très riche en flavonoïdes (quercétine, rutine) (Konrad *et al.*, 2000 ; Chrubasic *et al.*, 2007) et

d'après certains auteurs ces composés interviennent généralement pour protéger les plantes vis-à-vis de nombreux parasites et microorganismes pathogènes (Cushnie *et al.*, 2003 ; Kintzios et Barberaki, 2004).

Les résultats obtenus concernant l'espèce *C. siliqua* sont en parfait accord avec ceux obtenus par Kivakc *et al.* (2002) ces auteurs avaient montré que l'extrait méthanolique de cette plante ne possède pas une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *E. coli* alors qu'elle est presque absente chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Très peu de travaux sont réalisés concernant l'activité antibactérienne de *Cr. monogyna*, *F. excelsior* et *Q. coccifera*.

La sensibilisation des bactéries vis-à-vis des plantes dans cette étude varie d'une souche à une autre et d'une plante à une autre, la variation de la composition chimique des plantes étudiées explique probablement les fluctuations observées concernant cette activité.

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de substances naturelles bioactives tels les polyphénols, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices santé qu'ils pourraient procurer à l'homme. La présente étude s'est attelée à l'investigation phytochimique de quelques plantes de la région de Bejaia, par la détermination de leurs teneurs en polyphénols et par l'évaluation de certaines de leurs activités biologiques.

Les résultats obtenus indiquent qu'approximativement la moitié des feuilles des plantes fraîches sont constituées par l'eau. Les rendements en extraction sont assez élevés pour toutes les plantes et varient de 32 à 47%.

L'étude phytochimique indique la richesse des feuilles des espèces *Ceratonia siliqua* et *Quercus coccifera* en composés phénoliques totaux par rapport aux autres plantes étudiées. La teneur en polyphénols polaires est plus importante que la teneur des polyphénols apolaires. Les espèces *Urtica dioica* et *Fraxinus excelsior* possèdent un taux appréciable en flavonoïde et les résultats de la quantification des tanins révèlent une teneur plus élevée au niveau des feuilles des espèces *Quercus coccifera* et *Ceratonia siliqua*.

Le test biologique réalisé sur les cinq extraits de plantes en vue d'évaluer leur activité antioxydante par la méthode DPPH indique la capacité des plantes étudiées à piéger le radical dont les pourcentages d'inhibition oscillent de 26 à 61 %. L'espèce *Urtica dioica* détient le pouvoir inhibiteur le plus important similaire à celui de la quercétine et l'acide ascorbique. Les plantes étudiées présentent toutes un pouvoir réducteur appréciable, ce potentiel s'élevé avec l'augmentation des concentrations des extraits de plantes ce qui peut refléter la quantité d'antioxydants présents dans les différents échantillons. L'analyse des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante on fait ressortir dans un ordre croissant les plantes possédant une meilleure activité : *Q.coccifer* < *C. siliqua* < *Cr.monogyna* < *F.excelsior* < *U.dioica*.

Un coefficient de corrélation négative est obtenu entre la teneur en composés phénoliques totaux des plantes et leur activité antiradicalaire ( $r = -0,863$ ) ainsi que leur pouvoir réducteur ( $r = -0,816$ ). Ce qui indique que ce n'est pas forcément l'échantillon qui détient une teneur importante en polyphénols qui présente une activité antioxydante meilleur.

Plusieurs facteurs semblent moduler l'interaction polyphénols protéines, à savoir le pH du milieu, la force ionique et la concentration des polyphénols.

Les résultats obtenus lors de la variation des concentrations des polyphénols indiquent une évolution proportionnelle de la turbidité en fonction des concentrations. L'interaction polyphénols protéines est très peu influencée par la force ionique. Les résultats indiquent également que le complexe protéine polyphénols est fortement gouverné par le pH.

À la lueur de l'évaluation de l'activité antibactérienne des plantes étudiées, certaines espèces telles *U. dioica* s'avère très efficace contre *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Pseudomonas aeruginosa*, alors que *Cr.monogyna* en plus des bactéries citées précédemment inhibe la croissance d'*Escherichia coli*. Ce qui indique que cette inhibition varie selon la plante et la souche bactérienne.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude *in vitro* ne constitue qu'une ébauche dans la recherche de molécules naturelle biologiquement active présentes dans les végétaux, il serait nécessaire d'étayer ce travail par l'isolement et l'identification des substances polyphénoliques responsables de l'activité antioxydante et antibactérienne et d'étudier l'influence de la température dans l'interaction polyphénols protéine. De les analyser qualitativement et quantitativement par des techniques plus performantes tels, RMN, HPLC et GC-MS et de réaliser d'autres tests *in vivo* complémentaires.

## Références bibliographiques

### A

\*Abdile M. H., Singh R. P., Jayaprakasha G.K., Jena B.S. 2005. Antioxydant activity of the extract from *Dillenia indica* fruits. *Analytical Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry*, 90: 801-896.

\*Al-Fatimi M., Wurster M., Schroder G., Lindequist U. 2007. Antioxydant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 657-666.

\*Akagawa M., Suyama K. 2001. Amine oxidase-like activity of polyphenols Mechanism and properties. *Eur. Journal of Biochemistry*, 268: 1953-1963.

\*Akiyama H., Fujii K., Yamasaki O., Ooni T. Iwatsuki K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48:487 - 491.

\*Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T. M. 1993. Oxidants, antioxydants, and the degenerative diseases of aging. Review: *Product Natural Academic Science of USA*, 90: 7915- 7922.

\*Aurousseau B. 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: Conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Productions Animales*, 15:67-82.

### B

\*Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *AMAS. Food and Agricultural Research Council*, 83-94.

\*Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A., Aruoma O. I. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxydant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84:1553-1561.

\*Balaban M. 2004. Identification of the Main Phenolic Compounds in Wood of *Ceratonia siliqua* by GC-MS. *Phytochemical Analysis*, 15: 385-388.

\*Balasundram N., Yew Ai T., Sambanthamurthi R., Sundram K., Samman S. 2005. Antioxydant properties of palm fruit extracts. *Asia Pac J Clinical Nutrition*, 4 (4) :319-324.

\*Balasundram, N., Sundram K., Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxydant activity, occurrence, and potential uses. *Analytical Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry*, 99: 191-203.

\*Batlle I., Tous J. 1997. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. *International Plant Genetic Resources Institute*, 7-30

\*Baxter N. J., Lilley T. H., Haslam E., Williamson M. P. 1997. Multiple Interactions between Polyphenols and a Salivary Proline-Rich Protein Repeat Result in Complexation and Precipitation. *Biochemistry*, 36: 5566-5577.

\*Baydar N. G., Ozkan G., Yasar S. 2007. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control*, 18: 1131-1136.

\*Beloued A. 1998. *Plantes médicinales d'Algérie*. Ed: Office des Publications Universitaires. pp 152-153.

\*Ben Salem H., Ben Salem I., Nefzaoui A., Ben Said M.S. 2003. Effect of PEG and olive cake feed blocks supply on feed intake, digestion, and health of goats given kermes oak (*Quercus coccifera* L.) foliage. *Animal Feed Science and Technology*, 110:45–59.

\*Ben Salem H., Ben Salem I., Ben Said M.S. 2005. Effect of the level and frequency of PEG supply on intake, digestion, biochemical and clinical parameters by goats given kermes oak (*Quercus coccifera* L.)-based diets. *Small Ruminant Research*, 56:127–137.

\*Bennick A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13 (2): 184 -196.

\*Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. et Trotin F. 1990. *Plantes médicinales des régions tempérées*. Ed. Maloine. 155-231.

\*Blazovics A., Lugasi A., Szentmihalyi K., Kéry A. 2003. Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum tectorum* in vitro and in vivo. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(14): 99-102.

\*Bnouham M., Merhfour F-Z., Ziyyat A., Mekhfi H., Aziz M., Legssyer A. 2003. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia* 74: 677–681

\*Boullard B. 1997. *Plantes et champignons dictionnaire*. Ed. Estem. Pp : 350.

\*Boullard B. 2001. *Plantes médicinales du monde réalités et croyances*. Ed. Estem. Pp660.

\*Bruneton J. 1999. *Pharmacognosy : phytochemistry, medicinal plants*. Ed. Tec et Doc.100-757.

\*Bruneton J. 2002. *Phytothérapie : les données de l'évaluation*. Ed. Tec et Doc. 135- 137.

\*Bures P., Pavlíek T., Horová L., Nevo E. 2004. Microgeographic Genome Size Differentiation of the Carob Tree, *Ceratonia siliqua*, at 'Evolution Canyon', Israel *Annals of Botany*. 93(5): 529-535.

## C

\*Cai K., Bennick A. 2006. Effect of salivary proteins on the transport of tannin and quercetin across intestinal epithelial cells in culture. *Biochemical Pharmacology*, 72: 974- 980.

\*Cai Y.Z., Sun M., Xing J., Q. Luo , Corke H. 2006. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78 :2872 -2888.

\*Chang S., Tan C., Frankel E. N., Barrett D. M. 2000. Low-Density Lipoprotein Antioxidant Activity of Phenolic Compounds and Polyphenol Oxidase Activity in Selected Clingstone Peach Cultivars. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 147-151.

\*Campos F.M., Couto J.A., Hogg T.A. 2003. Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *Journal of Applied Microbiology*, 94 (2):167 174.

\*Carter D. C., Ho, J. X. 1994. Structure of serum albumin. *Advance Protein Chemistry*, 45: 153-203.

\*Charlton A. J., Baxter N. J., Lilley T. H., Haslam E., McDonald C. J., Williamson M.P. 1996. Tanin interactions with a full-length human salivary proline-rich protein display a stronger affinity than with single proline-rich repeats. *Federation of European Biochemical Societies*, 382: 289-292.

\*Charlton A. J., Haslam E., Williamson M. P. 2002. Multiple conformations of the proline-rich protein epigallocatechin gallate complex determined by time-averaged nuclear overhauser effects. *Journal of the American Chemists Society*, 124: 9899-9905.

\*Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., Kim J.M. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 39: 756-761.

\*Chrubasik J E., Roufogalis B D., Wagner H., Chrubasik., S A. 2007. A comprehensive review on nettle effect and efficacy profiles, Part I:Herba urticae. *Phytomedicine* ARTICLE IN PRESS

\*Corsi L., Avallone R., Cosenza F., Farina F., Baraldi C. Baraldi M. 2002. Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *Fitoterapia*, 73:674-684.

\*Cooray H. C., Janvilisri T., Van Veen H. W., Hladky S.B., Barrand M. A. 2004. Interaction of the breast cancer resistance protein with plant polyphenols *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317: 269-275.

\*Cowan M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582

\*Cushman M. A., Rizack S. W. 1970. Effects of Bovine Serum Albumin on the Metabolism of Glucose and the Release of Nonesterified Fatty Acids and Glycerol by the Isolated Adipose Cell. *The Journal of Cell Biology*, 46: 354-361.

\*Cushnie T.P.T, Hamilton V. E.S., Lamb A. J. 2003. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research*, 158: 281–289.

#### D

\*Dawra R. K., Makkar H. P. S., Singh B. 1988. Total Phenolics, Condensed Tannins, and protein-precipitable phenolics in young and mature leaves of Oak species. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 36: 951-953.

\*Daud A., Gallo A., Sanchez Riera A. 2005. Antimicrobial properties of *Phrygilanthus acutifolius*. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 193-197.

\*de Freitas V., Mateus N. 2001 a. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49: 940-945.

\*de Freitas V., Mateus N. 2001b. Nephelometric study of salivary protein-tanin aggregates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 113-119.

\*de Freitas V., Carvalho E., Mateus N. 2003. Study of carbohydrate influence on protein-tanin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81:503-509.

\*Derbel S., Ghedira K. 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1: 28-34.

\*Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4): 654-660.

\*Djerroumi A., Nacef M. 2004. 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Palais du livre. 51-108.

\*Drewnowski A., Gomez-Carneros C. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: A review. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72:1424-35.

\*Duke J. A., Bogenschutz-Godwin M., Du Cellier J., Duke P.A. K. 2003. *CRC handbook of Medicinal Spices* . CRC PRESS. Pp: 334.

\*Dureau R., Aussibal G., Beylier B., Brosse-Genévet E., Clopez M., Étienne M., Kmiec L., Rigolot É., De Rouville S. 2003. Gestion des garrigues à chêne kermès sur coupures de combustible. Réseau Coupures de combustible. Ed. de la Cardère Morières. Pp : 83.

#### E

\*Eddouks M., M. Maghrani M., Zeggwagh N.A., Haloui M., Michel J.-B. 2005. *Fraxinus excelsior* L. evokes a hypotensive action in normal and spontaneously hypertensive rats *Journal of Ethnopharmacology*, 99 : 49-54.

\*El. Allagui, N., Bourijate M., Tahrouh S., Hatimi A. 2006. Effet de cinq extraits végétaux sur meloidogyne ssp de la tomate. *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement*, 357-360.



\*Egan, P., Middleton, P., Shoeb, M., Byres, M., Kumarasamy, Y., Middleton, M., Nahar, L., Delazar, A., Sarker S. D. 2004. GI 5, a dimeric oleoside, from *Fraxinus excelsior* (Oleaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 1069-1071.

\*Es-Safi N., Kollmann A., Khelifi S., Ducrot P.H. 2007. Antioxydative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. Structure activity relationship. *LWT*, 40: 1246-1252.

\*Ezaki-Furuichi E., Nonaka G.I., Nishioka I., Hayashi K. 1987. Affinity of procyanidins (condensed tannins) from the bark of *Rhaphiolepis umbellata* for proteins. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(1): 115-120.

#### F

\*Farrukh A., Iqbal A., Zafar M. 2006. Antioxydant and free radical properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Journal of Turkish Biology*, 30: 177-183.

\*Ferreira de Lima M. R., de Souza Luna J., Feitosa dos Santos A., Cano de Andrade M. C., Goulart Sant'Ana A. E., Genet J.P., Marquez B., Neuville L., Moreau N. 2006. Antibacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethno pharmacology*, 105: 137-147.

\*Fintelmann V., Weiss R. F. 2004. *Manuel de la phytothérapie*. Ed. Vigot. 141-252

\*Fogliano V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A. 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47:1035-1040.

#### G

\*Gadow A. V., Joubert E., Hansmann C. F. 1997. Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 45: 632- 638.

\*Gausson H., Deuroy J. F., Ozenda P. 1982. Précis de botanique II. In « les végétaux supérieurs ». Ed. Masson. 260- 333.

\*Gerosa G., Marzuoli R., Bussottic F., Pancrazic M., Ballarin-Denti A. 2003. Ozone sensitivity of *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* young trees in relation to leaf structure and foliar ozone uptake. *Environmental Pollution*, 125: 91-98.

\*Gil M. I., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Holcroft D. M., Kader A.A. 2000. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 4581-4589.

\*Gülçin I., Oktay M., Kireççi E., Küfrevioğlu O.I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-382.

\*Gülçin I., Küfrevioğlu Ö.I., Oktay M., Emin Büyükkuroğlu M. 2004 a. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 205-215.

\*Gülçin I., Gungor Sat I., Beydemir S., Elmastas M., Kufrevioglu O.I. 2004 b. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb)buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87: 393-400.

\*Gülçin I., Alici H. A., Cesur M. 2005. Determination of *in Vitro* Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. *Pharmaceutical Chemistry Bulltin* 53(3):281-285.

\*Guignard J.L. 1989. *Abreges de botanique*. Ed. Masson. 109-116.

\*Guil-Guerrero J.L., Reboloso-Fuentes M.M., Torija Isasa M.E. 2003. Fatty acids and carotenoids from Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 111-119.

### *H*

\*Hagerman, A.E., Butler, L.G. 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannin. *Journal agriculture and Food Chemistry*, 26 (4): 809-812

\*Hagerman, A.E., Butler, L.G. 1980. Determination of Protein in Tannin-Protein Precipitates. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 28: 944-947.

\*Hagerman, A.E., Butler, L.G. 1981. The Specificity of Proanthocyanidin-Protein Interactions\* *The Journal of Biological Chemistry*, 256 (9) : 4444-4497.

\*Hagerman A., Robbins C.T., Weerasuriya Y., Wilson T.C., Mcarthur C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45 (1):57-62.

\*Hagerman A., Riedl K. M., Jones G. A., Sovik K. N., Ritchard N.T., Hartzfeld P. W., Riechel T. L. 1998. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 46: 1887-1892.

\*Hanasaki Y., Ogawa S., Fukui S. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical of Biology Medecine*, 16: 845-850.

\*Harborne J. B., et Sherratt, H. S. A. 1961. Plant polyphenols 3. flavonoids in genotypes of *primula sinensis*. *Biochemistry Journal*, 278-298.

\*Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. 1998. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata* . *Phytochemistry*, 48:125–9.

\*Harder L., Christensen L. P., Christensen B. T., Brandt K. 1998. Contents of flavonoids and other phenolics in wheat plants grown with different levels of organic fertilizer. *International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, 1-30.

\*Haslam E.1974. Polyphenol-Protein Interactions. *Biochemistry Journal*. 139:285-288.

\*Haslam H. 1998. *Practical polyphenolics; from structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge University Press, 169-336.

\*Hasten B. 1983. Flavonoids: A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32 (7):1141–1148.

\*Hayouni E.A, Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Analytical Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry*, 105:1126-1134.

\*Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572-584.

\*Henis Y., Tagari H., Volcani R. 1964. Effect of Water Extracts of Carob Pods, Tannic Acid, and Their Derivatives on the Morphology and Growth of Microorganisms. *Applied Microbiology*, 12(3):204-209.

\*Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 2-5.

\*Heinonen M.I., Lehtonen P.J., Hopia A. 1998. Antioxydant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 25-31

\*Hofmeister J., Mihaljevic M., Hosekc J. 2004. The spread of ash (*Fraxinus excelsior*) in some European oak forests: an effect of nitrogen deposition or successional change. *Forest Ecology and Management*, 203: 35-47.

\*Hojnik M., Škerget M., Knez Ž. 2007. Isolation of chlorophylls from stinging nettle; (*Urtica dioica* L.). *Separation and Purification Technology*, Article in Press.

\*Huang H.H., Kwok K.C., Liang H.H. 2004. Effect of tea polyphenols on the activities of soybean trypsin inhibitors and trypsin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 121-126.

\*Huang D., Ou B., Prior R.L. 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Agricultural Food Chemistry*, 53(6): 1841-1856.

### I

\*Ito H., Yamaguchi K., Kim T.H, Khenouf S., Gharzouli K., Yoshida T. 2002. Dimeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins from *Quercus coccifera* and *Quercus suber*. *Journal of Natural Product*, 65(3): 339 -345.

### J

\*Jaktas V., Janulis V., Labokas J. 2004. Research of the amounts of flavonoids accumulated in the buds of single-styled hawthorn. *Medicina (Kaunas)*, 40(8):750-752.

\*Javanmardi J., Stushno C., Locke E., Vivanco J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83: 547-550.

\*Jöbstl E., O'Connell J., Fairclough P.J.A., Williamson M. P. 2004. Astringency: A molecular model for polyphenol/protein binding. *Fibre Diffraction Review*, 12: 66-69.

\*Jones, G. A., T. A. McAllister, A. D. Muir, and K. J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia scop.*) condensed tanins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied Environmental and Microbiology*, 60:1374-1378.

### Κ

\*Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H. J., Rauha J.P., Pihlaja K. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962

\*Karou F.D., Dicko M.H., Simpore J., Traore A.S. 2004. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina African *Journal of Biotechnology*, 4 (8): 823-828.

\*Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94 : 550-557.

\*Khenouf S., Benabdallah H., Gharzouli K., Amira S., Ito H., Kim T.H., Yoshida T., Gharzouli A. 2003. Effect of Tannins from *Quercus suber* and *Quercus coccifera* Leaves on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (5):1469 -1473.

\*Kintzios S. E., Barberaki M.G. 2004. Plants and cancer. In plants that fight cancer. Ed. CRC PRESS. Pp: 314.

\*Kivçak B., Merth T., Tansel ozturk H. 2002. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Ceratonia siliqua* L. Extracts. *Journal of Biology*, 26:197-200.

\*Konrad, L., Muller, H.H., Lenz, C., Laubinger, H., Aumüller, G., Lichius, J.J. 2000. Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract. *Planta Medina*, 66: 44- 47.

\*Kostova I., Iossifova T. 2007. Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia*, 78: 85-106.

\*Kroyer G.T. 2003. Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient Innovative. *Food Science and Emerging Technologies*, 5: 101 –105.

\*Kuate, V., Tangmouo, J.G., Penlap Beng, V., Ngounou, F.N., Lontsi, D. 2006. Antimicrobial activity of the methanolic extract from the stem bark of *tridesmostemon omphalocarpoides* (Sapotaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 104: 5-11.

### Λ

\*Laaidi M. 1997. Bioclimatologie d'une plante xérophile du sud de la France : le chêne kermès *Science et changements planétaires / Sécheresse*, 8: (1) 21-8.

\*Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., Fillastre J.P. 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52: 314–322.

\*Lambraki M., Marakrsi S., Roussos S. 1994. Effect of temperature and aeration flow on carob tannin degradation by *Aspergillus carbonarius* in solid state fermentation system. *Micol. Neotrop. APL*, 7 : 23-34.

\*Lee J., Koo N., Min D.B. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.

\*Lizardo R., Canellas C., Mas F., Torrallardona D., Brufau J. 2002. L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets. *Journées de la Recherche Porcine*, 34: 97-101.

\*Lojkwska E., Holubovska M.1992.The role of polyphenol oxidase and peroxydase in potato tuber resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora*. *Journal of Phytopathology*,136:319-328.

\*Lo Scalzo R. 2008. Organic acids influence on DPPH\_ scavenging by ascorbic acid. *Food Chemistry*, 107: 40-43.

\*Lu Y., Bennick A. 1998. Interaction of tannin with human salivary proline-rich proteins. *Arch Oral Biol*, 43:717-28.

## *M*

\*Maghrani M., Zeggwagh N-A., Lemhadri A., El Amraoui M., Michel J-B., Eddouks M. 2004.Study of the hypoglycaemic activity of *Fraxinus excelsior* and *Silybum marianum* in an animal model of type 1 diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 309-316.

\*Makkar H.P.S., Dawra R.K., Singh B. 1991. Tanin levels in leaves of some oak species at different stages of maturity. *Journal of Science and Food Agriculture*, 54: 513–519.

\*Makkar H.P.S., Singh B. 1991. Effect of drying conditions on tanin, fibre and lignin levels in mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Journal of Science Food Agriculture*, 54: 323-328.

\*Makkar H. P. S., Becker K.1998. Do tanins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity. *Agroforestry Systems*, 40: 59–68.

\*Makris D. P., Kefalas P. 2004. Food Technol. Biotechnol. Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a Source of Polyphenolic Antioxidants, 42 (2):105-108.

\*Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L . 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (5): 727-747.

\*Mangan J. L. 1988. Nutritional effects of tanins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, 1: 209-231.

\*Manian R., Anusuya N., Siddhuraju P., Manian S. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O.Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry*, 107: 1000-1007.

\*Maie, N., Behrens, A., Knicker, H. & Kögel-Knabner, I. 2003. Changes in the structure and protein binding ability of condensed tannins during decomposition of fresh needles and leaves. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 577-589.

\*Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments *Médecine sciences*, 20(4): 1-24.

\*Marfak A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoides. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de pesticides. Thèse de Doctorat Biophysique. Pp: 220.

\*Martin A., Cabrera A., Lopez Medina J. 1991. Antinutritional factors in faba bean. Tannin content in *Vicia faba*: possibilities for plant breeding. *Options Méditerranéennes – Série Séminaires*, 10 : 105-110.

\*Matkowski A., Piotrowska M. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77: 346-353.

\*Mateus N., Carvalho E., Luis C., de Freitas V. 2004 a. Influence of the tannin structure on the disruption effect of carbohydrates on proteins-tannin aggregates. *Analytica Chimica Acta*, 513: 135 - 140.

\*Mateus N., Pinto R., Ruao P., de Freitas V. 2004 b. Influence of the addition of grape seed procyanidins to Port wines in the resulting reactivity with human salivary proteins. *Food Chemistry*, 84: 195-200.

\*Mc Arthur C., Sanson. C. D. 1993. Nutritional effects and costs of a tannin in two marsupial arboreal folivores. *Functional Ecology*, 7: 97-103.

\*Mehansho H., Asquith T. N., Butler L. G., Rogler J. C., Carlson D.M. 1992. Tanin mediated induction of proline-rich protein synthesis. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 40: 93-97.

\*Mességué M. 1975. *Mon herbier de santé*. Ed. Robert Laffont. 52-232.

\*Meusinger R. 2006. Solution to Spectroscopy Challenge 10. *Anal Bioanalytical Chemistry*, 384: 1027–1028.

\*Middleton E. JR., Kandaswami C., Theoharides T. C. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Review*, 52 (4): 673–751.

\*Miller H. E. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48: 91.

\*Miller N. J., Diplock A. T., Rice-Evans C. A. 1995. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43: 1794-1801.

\*Mole S., Waterman P.G. 1988. Light induced variation in phenolic levels in foliage of rain forest plants. Potential significance to herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 23-34.

\*Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbled M. 1996. Extraction des Polyphenols du laboratoire à la production industrielle. Id. INRA. In : Polyphenols 96. Vercauteren J. 31-43.

\*Muchuweti M., Nyamukonda L., Chagonda L. S., Ndhala A. R., Mupure C., Benhura M. 2006. Total phenolic content and antioxidant activity in selected medicinal plants of Zimbabwe. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(33): 28-33.

## N

\* Nacz M., Oickle D., Pink D., Shahidi F. 1996. Protein precipitating capacity of crude canola tannins: effect of pH, tannin, and protein concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44:2144 - 2148.

\*Nacz M., Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:1523-1542.

\*Nascimento G. F., Locatelli J., Freitas P. C., Silva G.L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4) : 247-256.

\*Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D.E.C., Boelens P. G., Van Norren., Van Leeuwen P. A. M. 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Society for Clinical Nutrition*, 74:418–25.

## O

\*Oh H. I., Hoff J. E., Armstrong G.S., Haff L. A. 1980. Hydrophobic interaction in tannin protein complexes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 28: 394-398.

\*Ormeno E., Mevy J.P., Vila B., Bousquet-Melou A., Greff S., Bonin G., Fernandez C. 2007. Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plant water potential. *Chemosphere*, 67: 276–284.

\*Okuda, T. 2005. Systematics and health effects of chemically distinct tanins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66: 2012- 2031.

\*Owen, P. L. and Johns, T. 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 149-160.

\*Özen T. et Korkmaz H. 2003. Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. *Phytomedicine*, 10: 405-415.

### *P*

\*Papadopoulou A., Frazier R. A. 2004. Characterization of protein-polyphenol interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 186-190.

\*Papatheodorou, E. M., Stamou, G. P. 2004. Nutrient attributes of tissues in relation to grazing in an evergreen sclerophyllous shrub (*Quercus coccifera* L.) dominating vegetation in Mediterranean-type ecosystems. *Journal of Arid Environments*, 59:217 -227.

\*Paris M., Hurabielle M. 1981. Abrégé de matière médicale pharmacognosie : Tome I : Généralités monographies. Ed. Masson. 59-61.

\*Pascual G., Molinas M., Verdaguer D. 2002. Comparative anatomical analysis of the cotyledonary region in three Mediterranean Basin *Quercus* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 89:383-392.

\*Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *In Vitro* assays. *Nutrient Requirements. Journal of Nutrition*, 133: 2812–2819.

\*Percival G.C., Keary I.P., AL-Habsi S. 2006. An assessment of the drought tolerance of *Fraxinus* genotypes for urban landscape plantings. *Urban Forestry and Urban Greening*, 5:17-27.

\*Pietta P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Product*, 63: 1035-1042.

\*Prigent S. 2005. Interactions of phenolic compounds with globular proteins and their effects on food-related functional properties. Thèse de doctorat en Agro Biotechnologie. Pp : 145.

\*Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *American Chemical Society, Article In Press*.

\*Pourmorad F., Hosseinimehr S. J., Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5 (11): 1142-1145.

\*Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 3396-3402.



\*Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A., Oksman-Caldentey K.M. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90 (4): 494.

### R

\*Ramachandra G., Virupaksha T. K., Shadaksharaswamy M. 1977. Relationship between Tannin Levels and in Vitro Protein Digestibility in Finger Millet (*Eleusine coracana* Gaertn.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 25 (5): 1101.

\*Rejeb M.N., Laffray D., Louguet P. 1991. Modification de la conductance stomatique de diverses origines tunisiennes de caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) soumises à une contrainte hydrique prolongée. IN L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. 149-158.

\*Rejeb M. N. 1995. Le caroubier en Tunisie : situation et perspectives d'amélioration Quel avenir pour l'amélioration des plantes .Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. 79-85.

\*Ribereau-Gayon P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed.Dunod.173-201.

\*Rice-Evans C. 1999. Screening of Phenolics and Flavonoids for Antioxidant Activity. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*. 239-253

\*Richard T., Vergé S., Vercauteren J., Monti J-P. 2001. Étude de l'interaction tanin protéine par RMN et modélisation moléculaire. *Bulltin Soc.Pharmacologique*,140:127-166.

\*Riehemann K., Behnke B., Schulze-Osthoff K. 1999. Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-Kb. *Federation of European Biochemical Societies*, 442(1): 89-94.

\*Rioux A., Dufresne C., Desgagnés M., Pelletier G., Petitpas S. 2005. L'ortie dioïque, guide de production sous régie biologique. *Filière des Plantes Médicinales Biologiques du Québec*, 2-17.

\*Rodriguez Vaquero M.J, Alberto M.R., Manca de Nadra M.C. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18: 93-101.

\*Rolland Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 11(6) : 419-424.

\*Roux D.G., Evelyn S. R. 1958. Condensed Tannins. A study of complex leucoanthocyanins present in condensed tannins, 69: 530-538.

### S

\*Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N. 1999.Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47: 425-431.

\*Scimeca D., Tétau M. 2005. Votre santé par les plantes : Guide familial pour guérir tous les maux quotidiens. Pp : 136.

\*Scalbert A. 1991. Antimicrobial properties of tanins. *Phytochemistry*, 30(12): 3875-3883.

\*Scalbert A., Williamson G. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine. Journal of Nutrition*, 130: 2073-2085.

\*Shahidi F., Naczki M. 2003. Phenolics in food and nutraceuticals publié. CRC Press. *Technology and Industrial Arts*. Pp : 558

\*Siebert K. J. 2006. Haze formation in beverages. *LWT*, 39:987- 994.

\*Silanikove N., Nitsan Z., Perevolotsky A. 1994. Effect of a Daily Supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratoniu siliquu*) by Sheep. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 42: 2844-2847.

\*Simon C. 2003. Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. Thèse doctorat en sciences chimiques. Pp : 219.

\*Simon C., Laguerre B. K, Schmitter M., Fouquert J.M., Pianet I, Dufourc E.J. 2003. Three dimensional structure and dynamics of wine tannin saliva protein complexes. A multitechnic approach. *Journal of Biochemistry*, 42: 10385-10395.

\*Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A. R., Simoni M., Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191-198.

\*Sokol Letowska A., Oszmianski J., Wojdylo A. 2007. Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*, 103: 853- 859.

\*Stern J. L., Hagerman A.E., Steinberg P.D., Mason P.K. 1996. Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 22 (10): 1877-1899.

\*Svedstrom U., Vuorela H., Kostianen R., Laakso I., Hiltunen R. 2006. Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*, 1112: 103-111

### T

\*Tsuchiya H, Inuma M. 2000. Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*, 7:161-165.

### U

\*Urbonaviciute A., Jakstas V., Kornysova O., Janulis V., Maruska A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. *Journal of Chromatography A*, 1112: 339-344.

## V

- \*Valent V. 1992. Phytothérapie traitements des maladies par les plantes. Ed. Maloine. 483-490.
- \*Van acker S. A. B. E., Van Den Berg D.J., Tromp M. J. L. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3):331-342.
- \*Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:4113-4117.

## W

- \*Wen – Rehaba A. I. 2002. Etude des activités biologiques et de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse doctorat en sciences chimiques. Pp : 127.
- \*Whang W. K, Park H. S., Ham I., Oh M ., Namkoong H., Kim H. K., Hwang D. W., Hur S. Y., Kim T. E., Park Y. G., Kim J.R., Kim J. W. 2005. Natural compounds, fraxin and chemicals structurally related to fraxin protect cells from oxidative stress. *Experimental and Molecular Medicine*, 37: (5) 436-446.
- \*Wichtl, M., Anton R. 2003. Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Tec et Doc.152- 624.
- \*Williams P .A., Buxton R.P. 1986. Hawthorn (*crataegus monogyna*)populations in mid-canterbury. *New Zealand Journal of Ecology*, 9: 11-17.
- \*Wills R.B.H., Bone K., Morgan M. 2000. Herbal products: active constituents, modes of action and quality of control. *Nutrition Research Reviews*, 13: 47-77.
- \*Wroablewski K., Muhandiram R., Chakrabartty A., Bennick A. 2001. The molecular interaction of human salivary histatins with polyphenolic compounds. *Journal of Biochemistry*, 268: 4384-4397.

## Z

- \*Zampini I.C., Vattuone M. A., Isla M.I. 2005. Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. ethanolic extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 102: 450–456.
- \*Zapatero J. M. 1999. Selections from current literature: effects of Hawthorn on the cardiovascular system. *Family Practice*, 16(5): 534-538.
- \*Zhang X. 2002. WHO monographs on selected medicinal plants volume 2. World Health Organization, 69-329.
- \*Zouhdi M., Bassima D., Lamnaouer Z., Hajjam M., Alaoui A. 1997. Activité antibactérienne de quelques plantes médicinales au maroc. *Biologie Infectiologie*, 3(2) : 1-14.
- \*Zuo Z., Zhang L., Zhou L., Chang Q., Chow M. 2006. Intestinal absorption of hawthorn flavonoids *in vitro*, *in situ* and *in vivo* correlations. *Life Sciences*, 79: 2455- 2462.



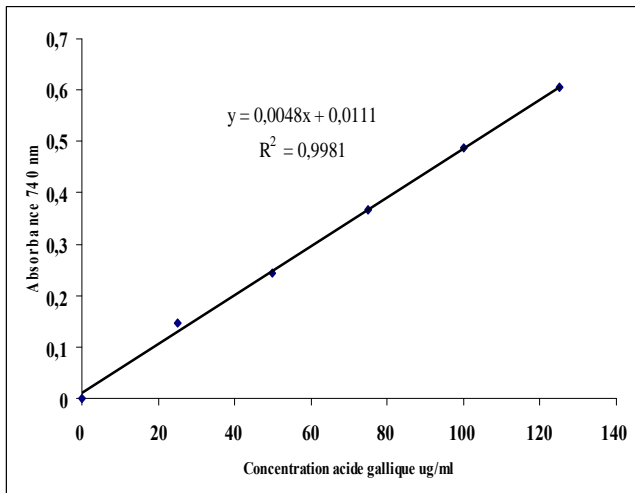
- **Accoutumance:** Phénomène au cours duquel un organisme s'habitue progressivement à un médicament, une drogue.
- **Akène:** Fruit sec indéhiscent contenant qu'une graine
- **Analgésique:** Antidouleur
- **Anémie:** Etat caractérisé par une baisse d'hémoglobine
- **Astringent:** Qui resserre et raffermi les tissus
- **Corolle:** Ensemble des pétales d'une fleur.
- **Créatinine:** Constituant azoté dont la teneur est très fixe dans le sang, résultant d'un effort musculaire.
- **Décoction:** Mettre la plante dans de l'eau (froide, tiède, ou déjà bouillante selon les cas) pendant un certain temps.
- **Dépurative :** Tous ce qui purifie l'organisme, éliminer les toxines
- **Diurétique :** Substance qui a pour effet d'augmenter la production d'urine
- **Énurésie :** Incontinence d'urine (en général nocturne) qui fait que les enfants mouillent leur lit
- **Eczéma:** Dermatose allergique très fréquente, accompagnée le plus souvent par une rougeur et des démangeaisons.
- **Gastro-entérite:** Infection inflammatoire caractérisée par l'émission brutale et fréquente de selles liquides et abondantes
- **Goutte :** Inflammation articulaire très douloureuses siégeant au niveau du g
- **Hémostatique :** Qui a la vertu d'arrêter les hémorragies
- **Histamine:** Médiateur chimique libéré lors des réactions d'hypersensibilité.
- **Inflammation:** ensemble de phénomènes réactionnels se produisant
- **Infusion:** Méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation végétale par dissolution dans un liquide initialement bouillant.
- **Laxatif:** Accélère l'évacuation intestinale, purgatif léger.

- 
- **Lithiase**: Affection caractérisée par l'apparition dans un conduit de l'organisme d'une masse minérale.
  - **Macération** : Mise en contact des parties actives, avec des solvants pendant un certain temps, à température ambiante, et sous agitation.
  - **Névralgie**: Douleur spontanée ou provoquée (par une lésion ou une irritation) localisée sur le trajet d'un nerf.
  - **Œdème**: Hyperhydratation extracellulaire provoquée par une rétention de sodium et l'eau dans les espaces interstitiels.
  - **Périarthrite**: Affection s'exprimant par une douleur des tissus péri-articulaires, comprenant les muscles, les tendons, les ligaments, etc.
  - **Pharmacopée**: Recueil à caractère officiel et réglementaire des matières premières autorisées dans un pays pour la fabrication des médicaments.
  - **Pharmacothérapie**: Correspond à l'utilisation optimale des médicaments qui sont reconnus comme efficaces dans le traitement ou la prévention d'une maladie.
  - **Phyto oestrogène**: Substance naturellement présente dans les plantes, possédant une structure chimique proche de l'oestradiol, principales hormones sexuelles de la femme.
  - **Phytostérol**: Analogues structuraux du cholestérol, permettant, la diminution de l'absorption du cholestérol alimentaire.
  - **Radical libre**: Espèce chimique possédant un électron non apparié.
  - **Scavenger** : Terme anglais signifiant piègeur.
  - **Stress oxydant**: Situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques.
  - **Urémie**: Accumulation de substance toxique dans le sang.
  - **Urticatoire**: Eruption cutané mobile et fugace.
  - **Vasoconstricteur**: Toute substance qui agit de façon à rétrécir les vaisseaux sanguins.

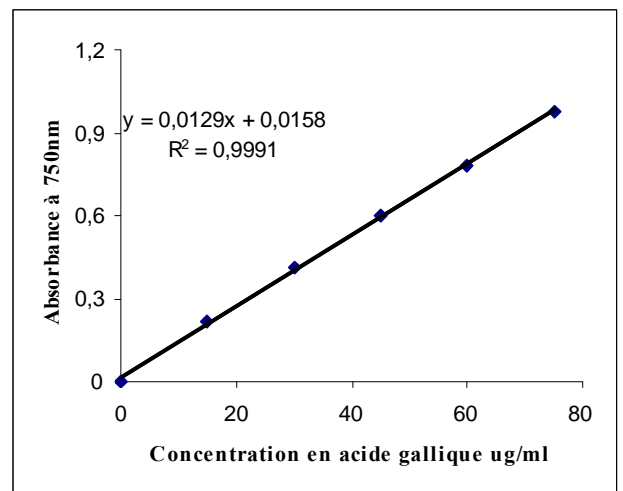
**Matériel végétal utilisé**

<i>Plante</i>	<i>Date</i>	<i>Lieu</i>	<i>Partie utilisée</i>
<i>Ceratonia siliqua</i>	Avril- 2007	Gouraya (Bejaia)	Feuille
<i>Crataegus monogyna</i>	Mars- 2007	Gouraya (Bejaia)	Feuille
<i>Fraxinus excelsior</i>	Mai- 2007	Gouraya (Bejaia)	Feuille
<i>Quercus coccifera</i>	Février- 2007	Gouraya (Bejaia)	Feuille
<i>Urtica dioica</i>	Mars- 2007	Aoukas (Oud djamaa)	Feuille

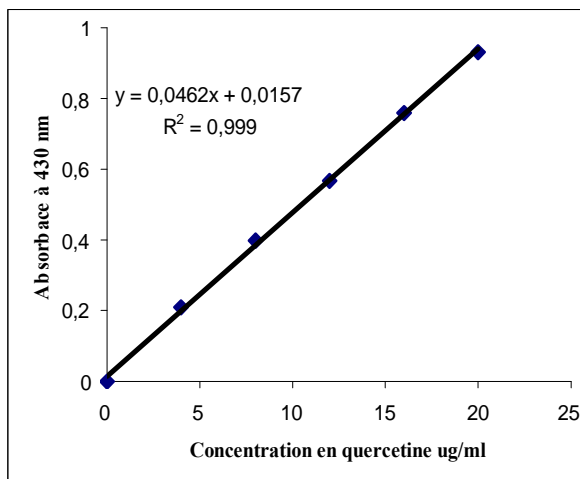
## Courbes d'étalonnages



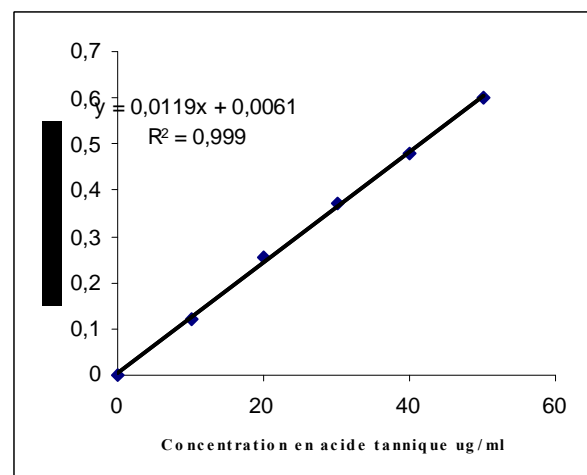
1)



2)



3)



4)

- 1 : Courbe d'étalonnage pour dosage des polyphénols totaux
- 2 : Courbe d'étalonnage pour dosage des polyphénols polaires
- 3 : Courbe d'étalonnage pour dosage des flavonoides
- 4 : Courbe d'étalonnage pour dosage des tanins



Paramètres	Plantes				
	<i>C. siliqua</i>	<i>Cr. monogyna</i>	<i>Q. coccifera</i>	<i>F. excelsior</i>	<i>U. dioica</i>
Rendement en extraction (%) m/m	47,5	42,5	45	32,5	34
Polyphénols totaux (mg/g) MS	369,76 ±1,318 <sup>a</sup>	258,63 ±2,598 <sup>b</sup>	180,85 ±3,404 <sup>d</sup>	288,76 ±1,209 <sup>b</sup>	220,51 ±5,847 <sup>c</sup>
Polyphénols Polaires (mg/g) MS	186,95 ±0,132 <sup>a</sup>	147,67 ±0,068 <sup>c</sup>	116,53 ±0,110 <sup>e</sup>	162,66 ±0,260 <sup>b</sup>	137,98±0,025 <sup>d</sup>
Polyphénols Apolaires (mg/g) MS	174,9	128,23	64,74	136,54	100,38
Flavonoïdes (mg/g) MS	32,01 ±0,126 <sup>c</sup>	36,35 ±0,111 <sup>b</sup>	49,73 ±0,196 <sup>a</sup>	25,6 ±0,313 <sup>d</sup>	50,56 ±0,418 <sup>a</sup>
Tanins (mg/g) MS	26,95 ±1,350 <sup>b</sup>	10,73 ±1,476 <sup>c</sup>	6,06 ±1,932 <sup>d</sup>	36,05 ±2,692 <sup>a</sup>	6,44 ±3,383 <sup>d</sup>

### Teneurs en composés phénoliques des différents extraits de plantes

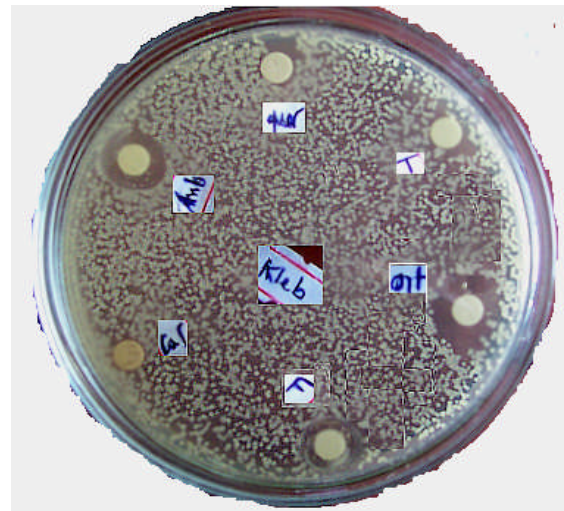
\*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,001)

\* Chaque valeur représente la moyenne± écart type (n = 3)

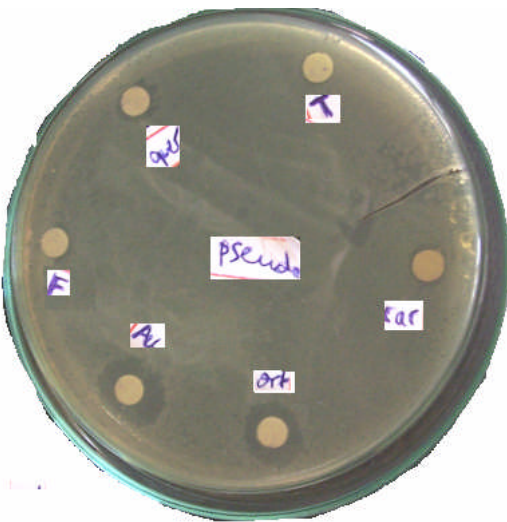
## Activité antibactérienne des extraits phénoliques de plantes étudiées



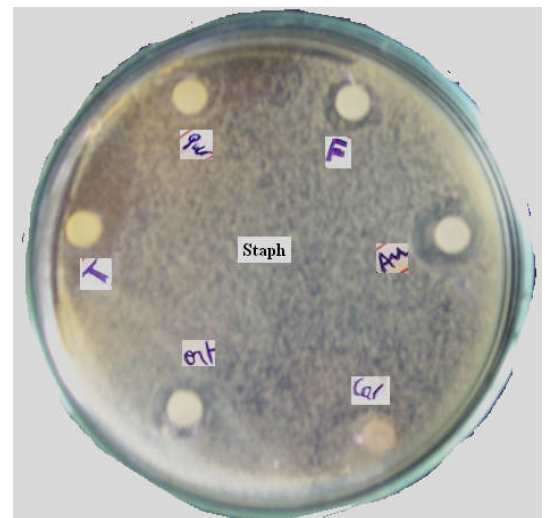
a)



b)



c)



d)

- a : Effet antibactérien des extraits de plantes contre *Escherichia coli*  
b : Effet antibactérien des extraits de plantes contre *Klebsiella pneumoniae*  
c : Effet antibactérien des extraits de plantes contre *Pseudomonas aeruginosa*  
d : Effet antibactérien des extraits de plantes contre *Staphylococcus aureus*

## *Matériels et réactifs*

### *A) Matériels*

Agitateur magnétique  
Bain marie (MEMMERT)  
Balance analytique (SARTORUIS)  
Balance de précision BP310P  
Broyeur électrique IKA-WORKS, TYPE A11  
Centrifugeuse PHYWE  
Etuve (BINDER, BD 53)  
pH mètre (HANNA, pH 210)  
Rotavapor (BUCHI R-200)  
Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU)  
Tamiseur RETSCH

### *B) Réactifs*

Acide acétique glacial (PROLABO)  
Acide ascorbique (PROLABO)  
Acide gallique (PROLABO)  
Acide tannique (SIGMA)  
Acide trichloracétique (PROLABO)  
Carbonate de sodium (PROLABO)  
Chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (SIGMA)  
DPPH (SIGMA)  
Ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>] (PROLABO)  
Folin- Ciocalteu (2N) (PROLABO)  
HCl 36% (PROLABO)  
Méthanol pur (PROLABO)  
Na Cl (PROLABO)  
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (PROLABO)

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (PROLABO)

Na OH (PROLABO)

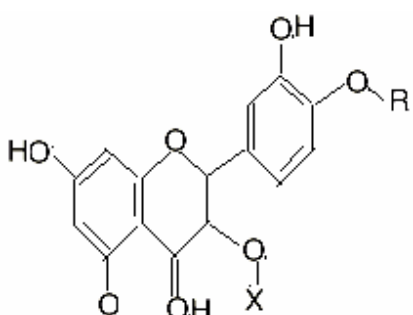
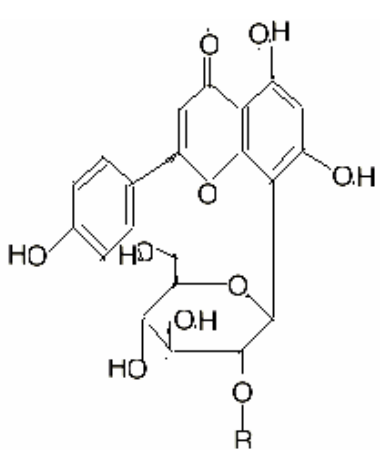
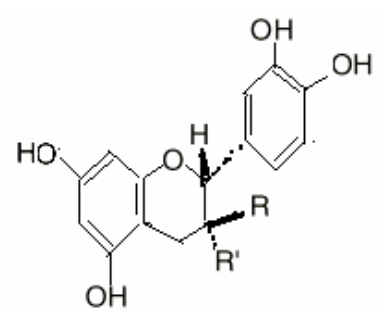
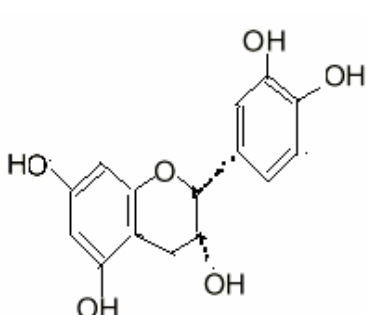
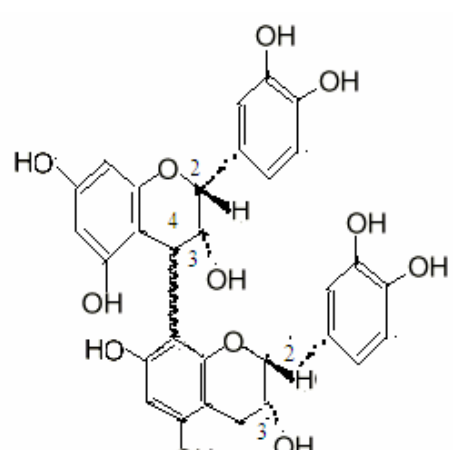
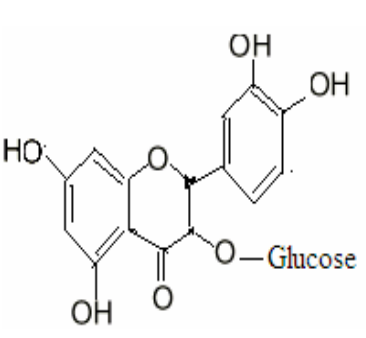
Quercetine (SIGMA)

Sérum Albumine Bovine (FISHER LABOSI)

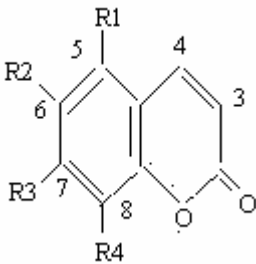
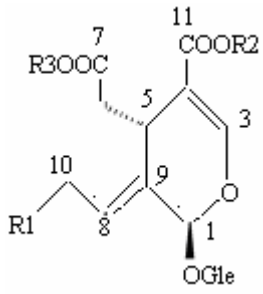
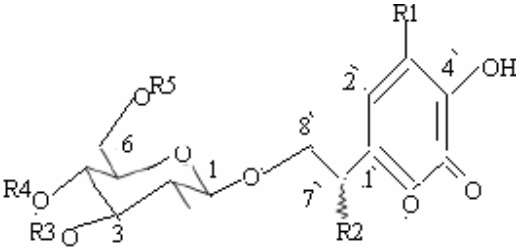
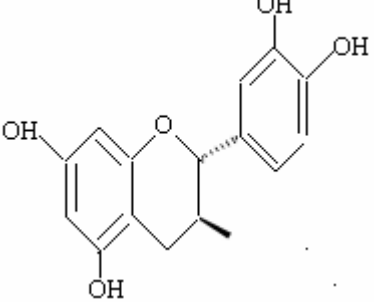
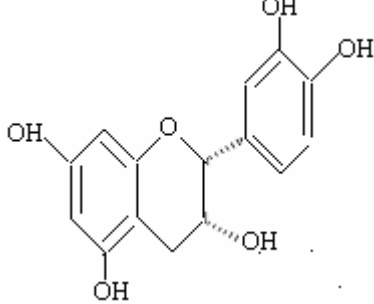
SDS (PROLABO)

Trichlorure d'aluminium (PROLABO)

Triéthanolamine (PROLABO)

	
<p>Rutine</p>	<p>Vitexine R= H Vitexine2-rhanoside R=Rha</p>
	
<p>Catéchine R=OH, R' =H</p>	<p>Epicatechine</p>
	
<p>Procyanidine</p>	<p>Isoquercétine</p>

Composition phytochimique des feuilles de *Cr. monogyna* (Zhang, 2002)

 <p>R1: H, OMe R2: OH, OGle, OMe R3: OH, Ogle, OMe R4: H, OMe, OH</p>	 <p>R1: H, OH R2: Me R3: Me, Oleuropeine, ligstroside, 10-Hydroxyligstroside, Excelsioside/formoside</p>
Coumarines	Secoiridoïdes
 <p>R1: OH R2: H, R3: Rha R4: Caff R5: H</p>	
Phenylethanoides glucosides	
	
<b>Flavonoïdes</b>	
Catéchine	Epicatechine

Constituants phytochimiques de *F. exlésior* (Kostova et Iossifova, 2007)

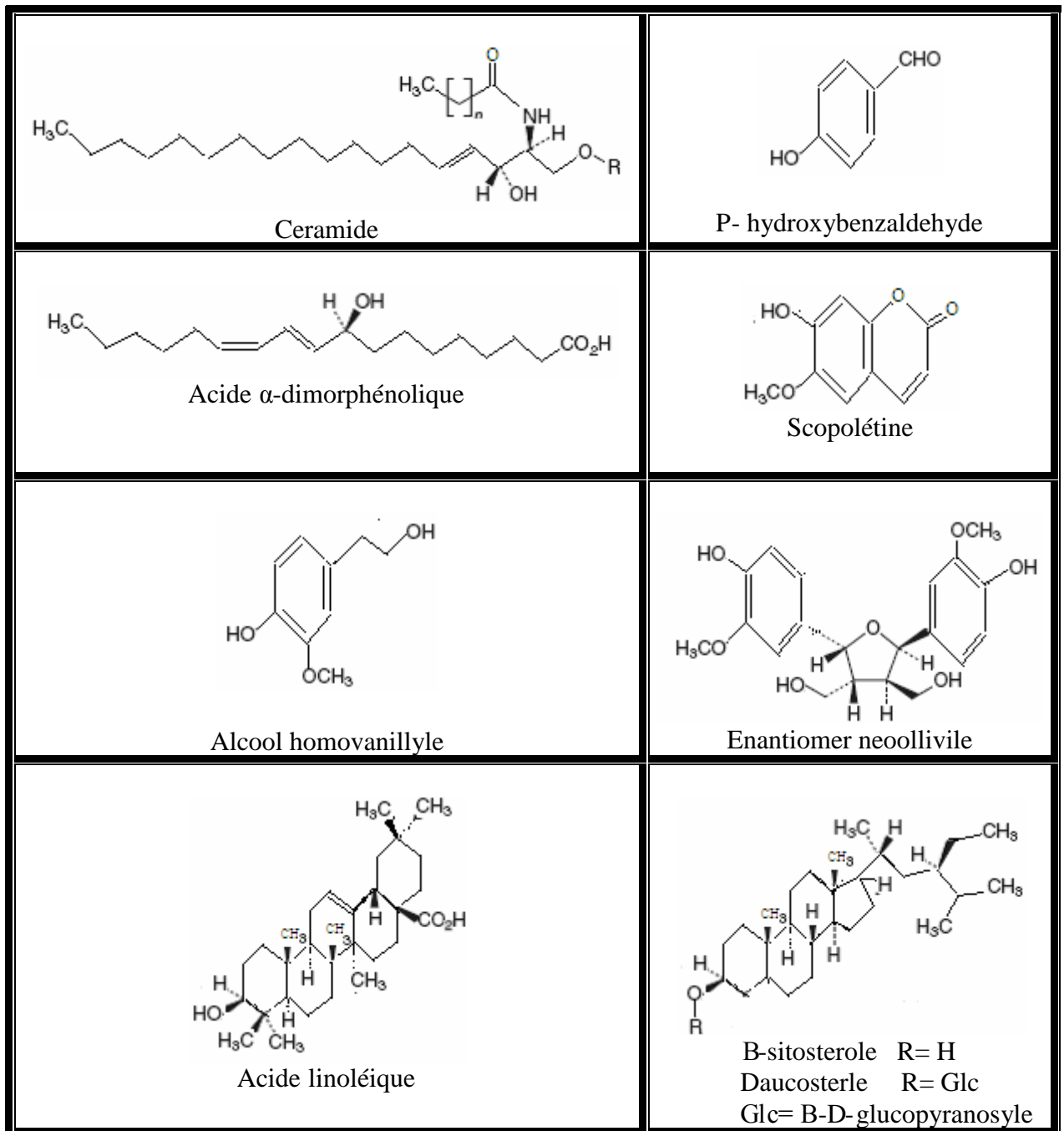


Figure illustrant quelques constituants de la feuille d'*U. dioica* L (Zhang, 2002)

### Résumé

L'intérêt grandissant porté pour les plantes provient du fait de la présence de substances actives présentant de nombreuses actions biologiques bénéfiques. Dans la présente étude cinq plantes (*C. siliqua*, *Cr. monogyna*, *F. excelsior*, *Q. coccifera* et *U. dioica*) ont été utilisées afin d'extraire les composés phénoliques et tester certaines de leurs activités biologique (antioxydante, antibactérienne et interaction avec les protéines). Les résultats de l'étude phytochimique révèlent la richesse de ces plantes en polyphénols totaux, une teneur plus au moins importante en flavonoides et en tanins. Plusieurs facteurs semblent gouverner l'interaction polyphénols protéines, à savoir le pH du milieu, la force ionique et la concentration des polyphénols. L'activité antioxydante totale des cinq plantes a été estimée par la mesure de l'activité antiradicalaire par et par le pouvoir réducteur du fer. Les résultats obtenus indiquent que dans l'ensemble, les plantes présentent un fort pouvoir réducteur mais également une capacité à inhiber activité le radical DPPH. L'évaluation de l'activité antibactérienne indique que les plantes étudiées sont habiles à inhiber les bactéries et cette inhibition varie selon la plante et la souche bactérienne.

**Mots clés :** Polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, interaction polyphénols protéines.

### Abstract

The growing interest related to the plants comes because the presence from active substances presenting from many beneficial biological actions. In the present study five plants (*C. siliqua*, *Cr. monogyna*, *F. excelsior*, *Q. will coccifera* and *U. dioica*) were used in order to extract the phenolic compounds and to test some their activities biological (antioxydant, antibacterial activity, and interaction with proteins). The results of phytochemical study reveal the richness of these total polyphenol plants, a content at least important of flavonoides and tanins. Several factors seem to control interaction polyphenols proteins, namely the pH medium, the ionic force and the concentration of polyphenols. The total antioxydant activity of the five plants was estimated by the measurement of DPPH free radical scavenging effect and the reducing power. The results obtained indicate that in the unit, the plants present a strong reduction but also appreciable free radical scavenging. Evaluation of the antibacterial activity indicates plants are skilful to inhibit growth of bacteria and this inhibition varies according to the plant and the bacterial.

**Key words:** polyphenols, antioxydant activity, antibacterial activity, interaction polyphenols proteins

### ملخص:

الاهتمام المتزايد بالنباتات الطبيعية في هذه الأونة الأخيرة ظهر نتيجة تواجد عناصر جـد فعّالة تملك العديد من الخصائص البيولوجية المفيدة. في هذه الدراسة خمس أعشاب طبيعية استعملت لغرض إستخلاص مركباتها الفينولية وإختبار بعض أنشطتها البيولوجية (فعّالية ضد الأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا و التفاعل مع البروتينات). بيّنت الدراسة الفيزيوكيماوية غنى هذه الأعشاب المستعملة بالفينولات الكلية و نتائج جـد مرضية بالنسبة للفلافونويد و التّنا .

عوامل كثيرة تتحكم في تفاعل المركبات الفينولية مع البروتينات مثل حمض الوسط التفاعلي، القوة الأيونية و قوة تركيز المستخلص النباتي. تمّ تقييم النشاط المضاد للأوكسدة بدراسة قوة تثبيط الجذر الحر DPPH و قوة إرجاع الحديد. أثبتت النتائج أن المستحضات النباتية لديها القدرة على تثبيط DPPH و قوة على الإرجاع. بيّنت الدراسات أيضاً قدرة مستحضات الأعشاب على كبح النشاط البكتيري الذي يختلف من نبات لآخر و من بكتيريا لأخرى .

**مفتاح الكلمات:** الفينولات، الفعالية ضد الأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، التفاعل مع البروتينات.