

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences alimentaires
Option : Bioprocédés technologie alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet du solvant, du temps et de la
température d'extraction sur l'activité
antioxydante des feuilles de *Hyoscyamus
albus* et *Pulicaria odora***

Présenté par :

Hocini Soumia ET Merabet Amina

Soutenu le : **16 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Mme LEHOUCHE R.

MCB

President

Mme BRAHMI N.

MAA

Examineur

Melle TOUATI N.

MAA

Encadreur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Nous remercions Dieu, le tout puissant qui nous a procuré patience, courage et volonté pour la réalisation et l'aboutissement de ce mémoire.

Au terme de ce modeste travail, nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice M^{elle} Touati pour l'honneur qu'elle nous a accordé en nous encadrant.

Nous tenons à exprimer notre grande considération aux membres du jury Mme LEHOUCHE R et Mme BRAHMI N pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous tenons à remercier M^r Tamandjari de nous avoir accueilli dans son laboratoire de Biochimie, et à tous les membres du laboratoire de l'Animalerie, ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et à tous ceux qui nous ont soutenus moralement par leur affection et qui nous ont permis par leurs conseils et leur soutien quotidien de toujours avancer.

Merci

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes très chers PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présent. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes très chères sœurs Meriem et Anissa

A ma très cher binôme Soumia

A mes chers amis

Enfin A toute la promotion 2015-2016

A tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Amina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes très chers PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présent. Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes très chères sœurs Lilia et Amina

A mon très cher frère Mounir

A mes très chères cousines et cousins

A ma très cher binôme Amina

A mes chers amis

Enfin A toute la promotion 2015-2016

A tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Soumia

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Structure des phénols simples	4
2	Structure générale des flavonoïdes	4
3	Structure des tannins	5
4	Photos de quelques plantes de la famille des Asteracées	8
5	Photos de quelques plantes de la famille des solanacées	10
6	Structure chimique d'hyoscyamine.	11
7	Photos des deux plantes étudiées	13
8	Structure chimique du radical libre DPPH	15
9	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	16
10	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	19
11	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	20
12	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	21
13	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	21
14	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	22
15	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	23
16	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	25
17	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	26
18	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i> .	27
19	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	27
20	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	28

21	Teneurs en flavonoïdes de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	29
22	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	30
23	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	31
24	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	32
25	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	32
26	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	33
27	Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH par les extraits des feuilles de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	34
28	Activité réductrices de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	36
29	Activité réductrices de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	36
30	Activité réductrices de l'extrait de <i>Pulicaria odora</i>	37
31	Activité réductrices de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	38
32	Activité réductrices de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	38
33	Activité réductrices de l'extrait d' <i>Hyoscyamus albus</i>	39

Listes des figures des annexes

Numéro	Titre
1	Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux
2	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes
3	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique du radical DPPH
4	IC ₅₀ du radical DPPH de l'extrait méthanolique
5	IC ₅₀ du radical DPPH de l'extrait acétonique
6	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique du radical ABTS

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Classification des composés phénoliques	3
II	Classification de <i>Pulicaria odora</i>	9
III	Classification d' <i>Hyoscyamus albus</i>	12
IV	Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits des deux plantes déterminé par le test DPPH	40

Liste des tableaux des annexes

I	Résultats des différents tests des extraits de <i>Pulicaria odora</i>
II	Résultats des différents tests des extraits d' <i>Hyoscyamus albus</i>

Liste des abréviations

ABTS: 2, 2 Azinobis-(3-Ethyl-Benzothiazoline-6-Sulfonate)

AND: Acide Désoxyribo-Nucléique

ANOVA: Analysis Of Variance

DPPH: 2,2-Di Phenyl-1-Picryl Hydrazyle

DW: Dry Weight

EAG : Equivalent Acide Gallique

EQ : Equivalent Quercétine

H₂O₂: Peroxyde d'Hydrogène

HO₂: Perhydroxy Radical

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%

OH° : radical hydroxyl

RO° : Radical Alkoxy

ROO°: Radical Peroxyl

rpm : Rotation Par Minute

ROS : Reactive Oxygen Species (Especes Reactives de l'Oxygène)

Glossaire botanique

Actinomorphes : une fleur actinomorphe se dit d'une fleur à symétrie axiale, comme les anémones de mérou qualifient une fleur dont les pièces sont disposées de manière symétrique par rapport à son axe.

Cosmopolite : On dit qu'une espèce est cosmopolite quand sa répartition, sur notre planète, est très vaste, pratiquement mondiale.

Dicotylédones : est une plante angiosperme dont la graine dispose, comme son nom l'indique, de deux cotylédons. ils sont aussi reconnaissables aux caractéristiques de leurs feuilles, de leurs racine, et à la présence, chez les formes ligneuses, d'une assise génératrice (le cambium), qui permet la croissance en largeur de leur tronc. les feuilles, quand à elles, possèdent en générale un pétiole et des nervures réticulées, contrairement à celles des monocotylédones, qui sont parallèles entre elles. leur racine, enfin, est le plus souvent pivotante et non fasciculée, comme c'est souvent le cas chez les monocotylédones

L'androcée : ensemble des étamines d'une fleur, disposées soit en spirale soit en un ou deux verticilles

Étamines : est l'organe mâle de la reproduction chez les végétaux supérieurs ou angiospermes. Elle se compose d'un filet et d'une anthère au sommet, portant elle-même les loges qui produisent et contiennent le pollen. L'ensemble des étamines forme l'androcée

Hermaphrodites : un organisme qui possède à la fois les organes reproducteurs mâles et femelles. Caractérisant les plantes portant des fleurs avec les organes des deux sexes (étamines et pistil).

Hyoscyamine : est un alcaloïde présent dans diverses plantes de la famille des Solanacées, notamment chez les Solanacées vireuses comme la belladone, la jusquiame, la datura ou la mandragore. L'hyoscyamine est l'ester de l'acide tropique gauche et du α -tropanol (tropine). C'est l'isomère lévogyre de l'atropine. Comme cette dernière, elle a des effets parasympholytiques (c'est-à-dire qui s'opposent à l'action du système nerveux parasympathique) se traduisant par une tachycardie, une mydriase, une diminution des sécrétions (salive, sueur) et un ralentissement du transit intestinal.

Zygomorphes : Zygomorphe qualifie une fleur dont la symétrie des pièces florales passe par un plan vertical et non par un axe, voire même sans aucune symétrie du tout. La zygomorphie est la caractéristique d'une fleur qui présente une symétrie bilatérale.

Scopolamine : est un alcaloïde tropanique présent chez les solanacées vireuses, proche de l'atropine . Elle est particulièrement abondante chez le datura et le brugmansia, notamment dans les graines, ainsi que dans les feuilles de duboisia.

Solanacées : sont une famille de plantesdicotylédones (*Magnoliopsida*) appartenant à l'ordre des *Solanales*¹, dont le nom vient du genre *Solanum*. Ce sont des plantes herbacées, desarbustes, des arbres ou des lianes avec des feuilles alternes, simples et sans stipules.

Solanum : Le genre *Solanum* (les **morelles**) a donné son nom (dont l'étymologie, peut-être dérivée du verbe « soulager » en latin, reste incertaine) à la famille des Solanacées, dont il est l'un des principaux représentants.

Solanales : c'est l'ordre des plantes à fleurs, regroupe les plantes dicotylédones.

Zygomorphe : qualifie une fleur dont la symétrie des pièces florales passe par un plan vertical et non par un axe, voire même sans aucune symétrie du tout. La zygomorphie est la caractéristique d'une fleur qui présente une symétrie bilatérale

Glossaire médical

Antispasmodique : c'est des médicaments qui aident à traiter les spasmes musculaires. Il s'agit de calmer ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles.

atropine : est un alcaloïde tropanique présent dans diverses plantes de la famille des solanaceae, comme la belladone, le datura, la jusquiame et la mandragore, (des solanacées dites vireuses).

Les entérites : est une inflammation de la muqueuse (couche de cellules recouvrant l'intérieur des organes en contact avec l'air)

Les entérocolites : inflammation des muqueuses de l'intestin grêle et du côlon (gros intestin, précédant le rectum). Associée à : la maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, colite pseudomembraneuse, colopathie, iléite, entérocolite

Chélation : est un processus physico-chimique au cours duquel est formé un complexe, le chélate, entre un ligand, dit chélateur (ou chélatant), et un cation (ou atome) métallique, alors complexé, dit chélaté

Médicament anti-cholinergique : Un médicament anti cholinergique inhibe (réduit) l'action de l'acétylcholine qui est un neurotransmetteur qui intervient dans le cerveau et le système nerveux parasympathique

Sédatif : est un médicament qui calme l'anxiété et la tension nerveuse, apaise les douleurs et aide à dormir en cas d'insomnie

Parasympatholytique : On dit d'une substance qu'elle est parasympatholytique lorsqu'elle empêche le fonctionnement normal du système nerveux parasympathique. Ce système est celui qui régule, avec le système sympathique, le fonctionnement des organes qui ne sont pas placés sous le contrôle de la volonté (cœur, intestins, foie, etc.). L'atropine, par exemple, est un parasympatholytique utilisé pour ses propriétés antispasmodiques. Puisqu'elle bloque le système parasympathique, elle permet entre autres de soulager les crampes d'estomac.

Pathogénie : (en grec, *pathos* : "maladie", et *genesis* : "origine, création") désigne le ou les processus responsable(s) du déclenchement et du développement d'une maladie donnée. On l'utilise aussi pour désigner les évènements ayant conduit à l'apparition d'une maladie et le déroulement de cette dernière

Sommaire

Liste des Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Composés phénoliques et activité antioxydante

I.1 Définition des polyphénols.....	3
I.2. Classification des polyphénols.....	3
I.3. Rôles des polyphénols.....	5
I.4. Méthodes d'extraction des polyphénols.....	6
I.5. Activité antioxydante.....	6
I.5.1. Radicaux libres.....	6
I.5.2. Antioxydant.....	7
a) Antioxydants synthétiques.....	7
b) Antioxydants naturels.....	7
I.5.3. Mécanismes d'action des antioxydants.....	7

Chapitre II : Généralités sur les deux plantes

II.1. Généralités sur la famille des astéracées.....	8
II.2. Généralités sur <i>Pulicaria odora</i>	8
II.2.1. Description répartition.....	8
II.2.2. Classification botanique.....	9
II.2.3. Principales utilisations de <i>Pulicaria odora</i>	9
II.3. Généralités sur la famille des solanacées.....	9
II.3.1. Description et répartition.....	10
II.4. Description de la jusquiame blanche.....	10
II.4.1. Effet toxique.....	11
II.4.2. Classification d' <i>Hyoscyamus albus</i>	11
II.4.3. Usage thérapeutique d' <i>Hyoscyamus albus</i>	12

Partie pratique

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Matériel végétaux.....	13
III.2. Traitement des échantillons.....	13
III.3. Extraction par optimisation.....	13
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	14
III.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	14
III.4. Détermination de l'activité antioxydante.....	15
III.4.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	15
III.4.2. Calcul de L'IC ₅₀	16
III.4.3. Pouvoir réducteur.....	16
III.4.4. Effet scavenger du radical ABTS.....	17
III.5. Etude statistique.....	18

Chapitre II : Résultats et Discussions

IV.1. Dosage des polyphénols totaux.....	19
IV.2. Dosage des flavonoïdes.....	25
IV.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	29
IV.3.1. Activité scavenging du radical DPPH.....	30
IV.3.2. Pouvoir réducteur.....	35
IV.3.3. Activité scavenger du radical ABTS.....	40
IV.3.4. Calcul des IC ₅₀ du radical DPPH.....	40
Conclusion.....	42

Références Bibliographiques

Annexe

Les plantes médicinales occupent actuellement un rang très important dans différents domaines (pharmaceutique, alimentaire, cosmétique, thérapeutique) (Djeridane *et al.*, 2006).

Les propriétés thérapeutiques des plantes médicinales sont dues à la présence de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures de tissus végétaux *in vivo et in vitro* (Vauzour *et al.*, 2010). Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement réputés pour leurs excellentes propriétés antioxydantes naturelles dues à la présence des substituants d'hydroxyles et leurs structures aromatiques, pour la prévention contre le cancer, les maladies cardiovasculaires, et inflammatoires (Gee et Johnson 2001).

Les antioxydants jouent un rôle important pour la santé puisqu'ils sont capables de réduire ou de neutraliser les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme ; ces radicaux libres sont notamment responsables de l'oxydation des cellules, de l'ADN, des protéines et des lipides, qui est à la base du processus de vieillissement, et de pathogénie de plusieurs maladies (Saha *et al.*, 2008).

Hyoscyamus albus fait partie de la famille des solanacées connues pour leur richesse en composés toxiques (l'atropine, la scopolamine et l'hyoscyamine) (Goullé *et al.*, 2004), cette plante possède des propriétés analgésiques, antipyrétiques et parasympholytique (Behouda *et al.*, 2014).

Pulicaria odora est une plante traditionnellement utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires (Ezoubeiri *et al.*, 2005), pour l'activité antibactérienne de ses huiles essentielles (Hanbali *et al.*, 2005) et pour ses composés phénoliques (Ezoubeiri *et al.*, 2005).

Le présent travail a pour but d'étudier l'effet du solvant, le temps et les températures d'extraction des composées phénoliques à partir de deux plantes médicinales (*Pulicaria odora et Hhyoscyamus albus*) récoltées au niveau de la région de Bejaia, et de tester leur activité antioxydante. Pour ce fait , nous avons scindé notre mémoire en deux parties :

- ❖ Une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les deux plantes médicinales, les composés phénoliques, et leurs activités antioxydantes.
- ❖ Une étude expérimentale qui consiste en :
 - ✓ Une extraction à différents temps, températures et concentrations du solvant des composés phénoliques à partir des feuilles des deux plantes étudiés.
 - ✓ Un dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes.
 - ✓ Une évaluation des activités antioxydantes par trois tests : DPPH, pouvoir réducteur et l'ABTS.

I.1. Définition des polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Kim *et al.*, 2003). Ils sont présents partout dans les racines, tiges, feuilles, fleurs de tous les végétaux (Middleton *et al.*, 2000), ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont caractérisés par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques (Macheix, 1996).

I.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carboné (Tableau I ; figures 1,2 et 3) (Macheix, 1996).

Tableau I : Classification des composés phénoliques (Macheix, 1996).

Nombre d'atomes de carbones	Structure	Classe
6	C ₆	Phénols simples
7	C ₆ -C ₁	Acide Hydroxybenzoliques
9	C ₆ -C ₃	Acide Hydroxycinnamiques, Coumarines
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthonnes
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes, isoflavonoïdes
n	(C ₆ -C ₃) n	Lignines
n	(C ₁₅) n	Tannins

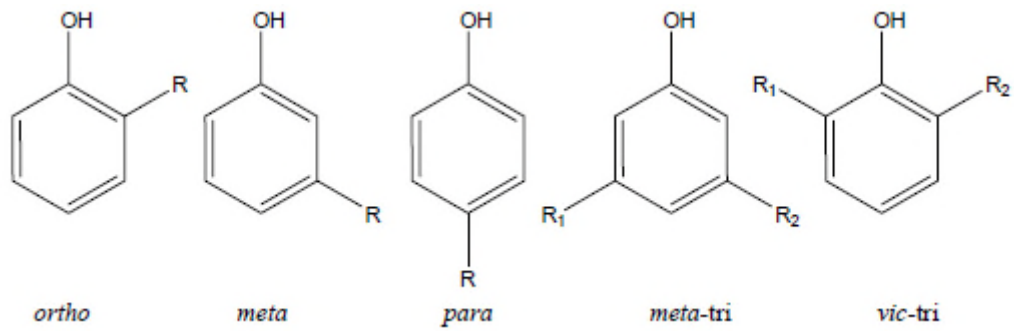


Figure N°1 : Structure des phénols simples (Vermerris et Nicholson, 2006).

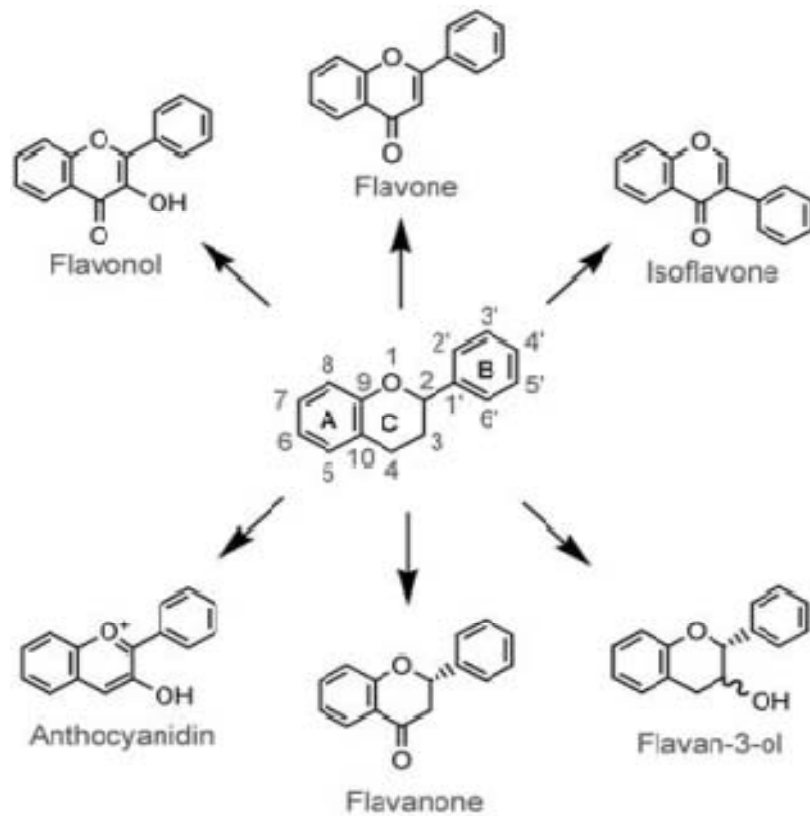
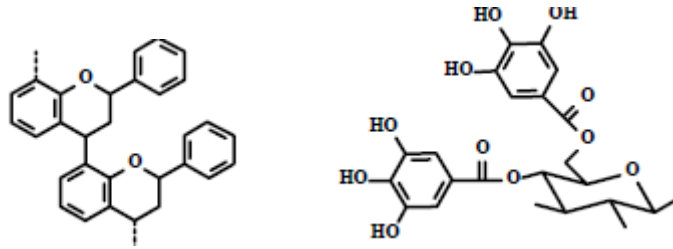


Figure N°2 : Structure générale des flavonoides (Crozier *et al.*, 2006).



Tannins condensés

Tannins hydrolysables

Figure N°3 : Structure des tannins (Vermerris et Nicholson, 2006).

I.3. Rôle des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. ils peuvent en effet intervenir :

- ✓ Dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...) ;
- ✓ Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- ✓ Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation ;
- ✓ Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentés...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Macheix *et al.*, 2005) ;
- ✓ Ils renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant et préviendraient ainsi les divers maladies chroniques, telles que cancer, et les maladies cardiovasculaires. L'effet protecteur des fruits et des légumes et sans doute très lié à la présence de très nombreux polyphénols dans ces aliments (Gee et Johnson, 2001).

I.4. Méthodes d'extraction des polyphénols

L'extraction est une étape importante dans la purification des substances actives des matières végétales. Le but du processus d'extraction est de prévoir un rendement élevé de ces substances ainsi qu'une bonne activité antioxydant des extraits (Spigno *et al.*, 2007).

Il existe plusieurs techniques pour récupérer les antioxydants des plantes telles que : l'extraction par soxhlet, macération, (Turkman *et al.*, 2006), l'extraction par micro-ondes, ultrasons et fluides supercritiques, parmi lesquelles l'extraction par solvants solide-liquide et liquide-liquide sont les plus employées et les plus fiables (Chirinos *et al.*, 2007 ; Banik et Pandey, 2008). L'efficacité de l'extraction par solvants est influencée par beaucoup de facteurs tels que le type du solvant, nombre d'étapes d'extraction, la concentration du solvant, le temps, la température, le pH, le ration solide-liquide et la granulométrie (Cacace et Mazza, 2003).

L'extraction par solvant est une technique fréquemment utilisée pour isoler les composés antioxydants des plantes. Cependant, les résultats des activités antioxydantes de la matière végétale sont fortement dépendant de la nature du solvant d'extraction ; qui peut être dû à la présence de différents composés antioxydants, avec des caractéristiques chimiques et des polarités variables qui peuvent être solubles ou pas dans un solvant particulier (Sultana *et al.*, 2009).

I.5. Activité antioxydant

I.5.1. Radicaux libres

Un radical libre est toute espèce qui contient un ou plusieurs électrons non appariés (Halliwell et Gutteridge, 2006). Un électron non apparié est celui qui occupe une orbitale atomique ou moléculaire par elle-même. De part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner une stabilité (Halliwell, 1999).

Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (Hussain *et al.*, 2003).

I.5.2. Antioxydants

Ils sont définis par Velioglu *et al.*, (1999) comme « des composés qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules, en inhibant l'initiation ou la propagation des réaction en chaîne de l'oxydation». Ils peuvent être classés en deux grandes catégories, les antioxydants naturels et synthétiques :

a) Antioxydants synthétiques

En général, les antioxydants synthétiques sont des composés avec des structures phénoliques de divers degrés de substitution alkylique, on cite parmi les antioxydants synthétiques : l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT). Des restrictions à l'utilisation de ces composés, cependant, sont imposées en raison de leur cancérogénicité (Velioglu *et al.*, 1999).

b) Antioxydants naturels

Les antioxydants naturels peuvent être des composés phénoliques tels que (les tocophérols, les flavonoïdes, et les acides phénoliques), composés azotés (alcaloïdes, dérivés de chlorophylle, acides aminés, et amines), ou bien les caroténoïdes et l'acide ascorbique (Velioglu *et al.*, (1999).

I.5.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2003).

Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydants et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanences par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infection) tel que $O_2^{\bullet-}$ (superoxyde anion), HO_2^{\bullet} (perhydroxy radical), H_2O_2 (hydrogène peroxyde), OH^{\bullet} (hydroxyle radical), RO^{\bullet} (alkoxyl radical), ROO^{\bullet} (peroxyl radical), O_2 (singlet oxygène) (Middleton *et al.*, 2000).

Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres formés dans divers circonstances tels que : le cas d'anoxie (absence d' O_2) qui engendre la production de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), et en cas d'inflammation qui correspond à la production d'anions superoxydes par la NADPH-oxydase chez les leucocytes activés ou bien par dismutation et on va également obtenir le radical hydroxyde (OH^{\bullet}) (Bruneton, 2009).

II.1. Généralités sur la famille des Asteracées

La famille des Asteracées (Composées) de la figure N°4, est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 1500 genres et plus de 25000 espèces.

C'est des plantes herbacées, arbustes, et parfois des arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues. Les feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, simples parfois lobées ou découpées ; les fleurs sont hermaphrodites, ou unisexuées, parfois stériles, actinomorphes ou zygomorphes (Walters *et al.*, 2002).



Acanthium onopordum

Cirsium

Bellis perennis

Figure N°4: Photos de quelques plantes de la famille des Asteracées (Tela botanica,2011)

II.2. Généralités sur *Pulicaria odora*

II.2.1. Description et répartition

Pulicaria odora est une plante herbacée vivace parfumée avec des fleurs jaunes (Bellakhdar, 1997), simple ou rameuse au sommet, velue, à tige dressée de 30-60cm, des feuilles pubescentes, laineuses en dessous, entières ou obscurément denticulées. Cette plante se retrouve dans les régions méditerranéennes (Tela Botanica , 2011).

II.2.2. Classification botanique

La classification de la plante *Pulicaria odora* est présentée dans le tableau II :

Tableau II: Classification de *Pulicaria odora* (Cronquist, 1981).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria odora</i>

II.2.3. Principales utilisations de *Pulicaria odora*

Pulicaria odora est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter douleurs dorsales, troubles intestinaux et les crampes menstruelles. Elle est également un constituant du remède traditionnel appelé " Mssakhen ", qui est donnée aux femmes après l'accouchement. Elle est considérée comme une épice appréciée pour sa saveur, qui est utilisé pour le pain et la viande. Les racines de cette plante sont encore utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires (Ezoubeiri *et al.*, 2005).

II.3. Généralités sur la famille des solanacées

La famille des Solanacées est cosmopolite comprend 102 genres avec 2460 espèces dans le monde. Les plantes de cette famille sont bien connues comme une source naturelle d'alcaloïdes tropan y compris hyoscyamine, scopolamine et l'atropine et sont cultivées pour leur importance médicinale, qui va parfois de l'utile en médecine au poison mortel (Satil *et al.*, 2015).

Cette famille a une importance économique énorme, car elle comporte quelques espèces comestibles majeures, des espèces alimentaires telles que : la pomme de terre, la tomate et des plantes à usage médicinal : Belladone (*Atropa belladonna* L.), Jusquiame (*Hyoscyamus albus*,

H niger...), et le fameux Tabac... Etc. Ces dernières sont surtout connues pour leur toxicité (Olmstead and Bohs, 2007).

II.3.1. Description et répartition

Les solanacées sont une famille de plantes dicotylédones appartenant à l'ordre des Solanales figure N°5, dont le nom vient du genre *Solanum* (Olmstead et *al.*, 1999). Linné nommait les plantes de cette famille les «blêmes», les «tristes» car les feuilles ont plutôt un aspect tombant avec des couleurs assez ternes. Elles présentent quelques caractères communs: ce sont essentiellement des herbes, bien représentées dans les zones tempérées et froides, l'ovaire présente un caractère peu évolué, apparition de la zygomorphe, l'androcée est réduit souvent à quatre étamines (Goullé et *al.*, 2004).

C'est en Amérique du Sud et en Amérique centrale que l'on rencontre le plus grand nombre d'espèces (Olmstead et Bohs, 2007).



Datura

Jusquiame

Belladone

Figure N°5 : Photos de quelques plantes de la famille des solanacées (Tela botanica , 2011)

II.4. Description de la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus*)

Les jusquiames sont des plantes appartenant au genre *Hyoscyamus* et à la famille des Solanacées. On cite: la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus* L.), qui pousse sur le pourtour du bassin méditerranéen. Le nom de la plante signifie en grec "fève de porc"(Tela botanica 2011), en berbère elle signifie "Tesker" et en arabe "Bou narjuf" (Hammiche et *al.*, 2013).

La jusquiame blanche est une variété annuelle ou bisannuelle, qui mesure de 30 à 90 cm de hauteur, à port dressé, a des feuilles plus petites que la jusquiame noire (5 à 10 cm de Long), elles sont larges, ovales, collantes et de couleur vert clair. Au printemps, la floraison,

donne des fleurs de 3 cm de long, bilabiées, irrégulièrement lobées, capsule peu renflée à la base, de couleur verte pâle veinées de violet, en forme de cloche de 2 à 3 cm à étamines (Goullé *et al.*, 2004).

Son odeur est vireuse nauséabonde et presque aussi forte que la jusquiame noire. La saveur de ses feuilles sont herbacée et très peu acre. La jusquiame blanche ne fleurit qu'en été et ne vit qu'une année (Gautier, 2008). Elle est utilisée comme source d'hyoscyamine figure N°6, qui est un médicament anti-cholinergique important d'origine végétale (Tamari *et al.*, 2014).

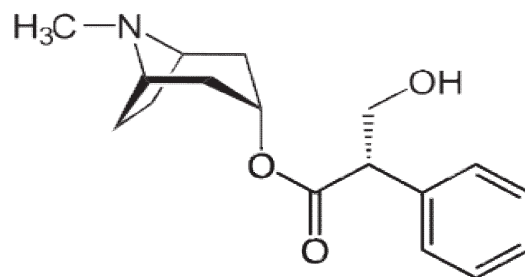


Figure N°6 : Structure chimique de l'hyoscyamine (Goullé *et al.*, 2004).

II.4.1. Effet toxique

Dans la Grèce antique, la jusquiame blanche était bien connue pour produire des altérations dramatiques de la conscience. D'autres rapports mentionnent une sorte de folie divine, des vertiges, hallucinations, délire ... (Sabat, 1957).

II.4.2. La classification de l'*Hyoscyamus albus*

La classification de la plante *Hyoscyamus albus* L. est présentée dans le tableau III :

Tableau III : Classification d'*Hyoscyamus albus* (Cronquist, 1981).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Famille	Solanacées
Genre	<i>Hyoscyamus</i>
Espèce	<i>Hyoscyamus albus</i>

II.4.3. Usage thérapeutique d'*Hyoscyamus albus*

Malgré une toxicité reconnue, cette plante présente quelques propriétés et effets thérapeutiques :

Pour calmer les douleurs en cas d'ophtalmie. *Hyoscyamus albus* est appliquée comme sédatif parasympatholytique et nerveux (Benhouda et Yahia, 2014). Elle a surtout des propriétés sédatives, On l'utilise comme antispasmodique contre les spasmes de l'estomac, la maladie de Parkinson, les entérites, les entérocolites, les douleurs de la vessie, etc. Elle figure parmi les substances les plus toxiques, d'où une surveillance médicale indispensable pendant l'utilisation éventuelle de cette plante (Lieutaghi, 2016).

III.1. Matériel végétal

Les échantillons de *Pulicaria odora* ont été récoltés dans la région d'Ain-skhoune en 2011, Tandis que pour *Hyoscyamus albus*, elle a été cueillie en 2014 à Toudja figure N°7. Les deux régions se situent dans la wilaya de Bejaïa.



Pulicaria odora



Hyoscyamus albus

Figure N°7 : Photos des deux plantes étudiées

III.2. Traitement des échantillons

Les tiges et les racines des échantillons de *Pulicaria odora* et *Hyoscyamus albus* sont enlevées, les feuilles sont bien nettoyées par l'eau douce afin d'éliminer toutes matières étrangères suspendues. Après séchage à l'étuve à 40°C, les feuilles sont coupées en petits morceaux, broyées en fine poudre puis tamisées pour obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 200 µm. Les poudres sont mises dans des flacons opaques.

III.3. Extraction

Les extraits de *Pulicaria odora* et *Hyoscyamus albus* ont été préparés selon la méthode de (Tawaha *et al.*, 2007), par une optimisation en fonction du temps, température et concentration du solvant et la nature du solvant. 0,250g de poudre de chaque espèce est introduit dans des tubes à essai contenant 10ml de chaque solvant utilisés : éthanol, méthanol et acétone à des concentrations différentes (50% ,80% ,100%), pendant des temps

différents (2h, 4h, 6h) et à des températures différentes (30°C, 50°C, 70°C) dans un bain marin agitateur. L'ensemble des extraits ont subi une centrifugation à 6000 rpm pendant 5 mn. Les surnagants ont été récupérés et mis dans des tubes à hémolyses. Au total 162 échantillons ont été utilisés pour les dosages et les activités étudiées.

III.3.1 Dosage des polyphénols

➤ Principe

La méthode utilisée pour le dosage des polyphénols totaux est celle au Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), la coloration produite présente un maximum d'absorption aux environs de 720-750nm, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques (Ribéreau-Gayon, 1968).

➤ Mode opératoire

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par la méthode décrite par Skerget *et al.*, (2004) avec le réactif de Folin-Ciocalteu : 0,5 ml d'extrait dilué, 2,5 ml de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau), on a ajouté 2 ml de Na_2CO_3 (75 g / l). L'échantillon a été incubé pendant 5 min à 50 ° C. Un témoin a été préparé en substituant l'extrait par le solvant d'extraction. L'absorbance a été mesurée à 760 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent milligramme d'acide gallique par gramme de poudre (courbe d'étalonnage annexe I).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre, en position 5, susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation des ions Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968).

➤ Mode opératoire

La méthode au trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol)

est ajouté 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent milligramme de quercétine par gramme de poudre (courbe d'étalonnage annexe I).

III.4. Détermination de l'activité antioxydant

III.4.1. Effet scavenger du radical DPPH

➤ Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Brand-williams *et al.*, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure N°8). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ambiante. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

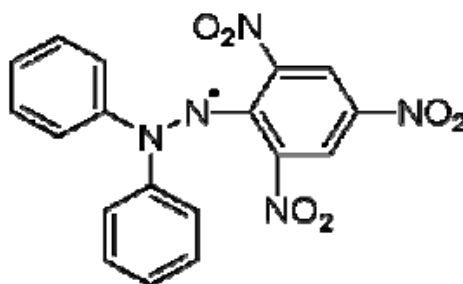


Figure N°8 : Structure chimique du radical libre DPPH (Brand williams, 1995)

➤ Mode opératoire

La solution de DPPH à 63.4 mM (25 mg dans 100 ml de méthanol 90%) est préparée à l'avance. Chaque composé phénolique a été dissous dans une solution de 70% éthanol-30% eau distillée. Des volumes de 0.1 ml de la solution à tester ont été mélangés avec 3.9 ml de la solution du DPPH. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes, on

l'incube pendant 30 min à l'abri de la lumière, puis on mesure les absorbances à 515 nm par un spectrophotomètre UV-9200 figure N°9. L'acide ascorbique est utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage (Annexe I) (Popovici *et al.*, 2009).

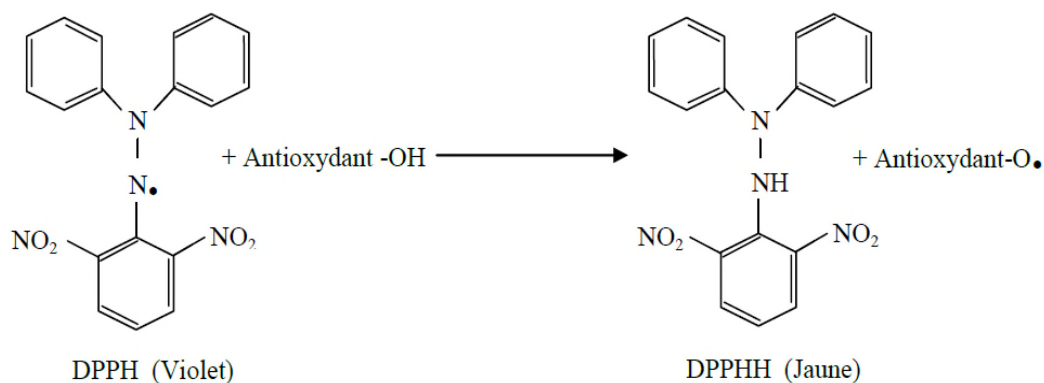


Figure N°9 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi *et al.*, 2015)

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(A_t - A_e) / A_t] \cdot 100$$

Où

A_t: Absorbance du témoin

A_e: Absorbance de l'échantillon

III.4.2 Calcul des IC₅₀

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards (Annexe I).

III.4.3. Pouvoir réducteur

➤ Principe

Les substances, qui ont le potentiel de réduction, réagissent avec du ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former le ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}), avec lequel réagit alors le chlorure ferrique pour former le complexe ferreux ferrique qui a un maximum d'absorption à 700 nm (Oyaizu, 1986).

➤ Mode opératoire

La méthode décrite par (Oyaizu, 1986). 1 ml de méthanol a été mélangé avec un tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et ferrocyanure de potassium (2,5 ml, 1 %). Le mélange a été mis en incubation à 50 ° C pendant 20 min. Une portion (2,5 ml) d'acide trichloracétique (10 %) a été ajoutée au mélange qui a ensuite été centrifugée à 3000 Rpm/10min. Le surnageant (2,5 ml) a été mélangé avec de l'eau distillée (2,5 ml) et du FeCl_3 (0,5 ml, 0,1 %) et l'absorbance a été mesurée à 700 nm.

Les résultats sont exprimés en équivalent milligramme d'acide ascorbique par gramme de poudre (Annexe I).

III.4.4. Mesure de l'activité scavenger du radical ABTS

➤ Principe

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$, (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Le radical est formé par oxydation de l'ABTS bleu vert avec différents composés. Le composé à tester est ajouté au radical préformé, l'absorbance résiduelle du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est mesurée à 734 nm après 1, 4 ou 6 minute(s).

Le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est formé par arrachement d'un électron (e^-) à un atome d'azote de l'ABTS. En présence d'un antioxydant donneur de H^\bullet , le radical d'azote concerné piège un H^\bullet , conduisant à l' ABTSH^+ , ce qui entraîne la décoloration de la solution (Re *et al.*, 1998).

➤ Mode opératoire

Selon (Rice-Evans *et al.*, 1997) à une solution d'ABTS dans l'eau (Sigma Aldrich) 7 mM est ajoutée une solution de persulfate de potassium (Sigma Aldrich) à 2,45 mM pour obtenir

une concentration finale de 3,5 mM. Le mélange est agité une nuit dans le noir à température ambiante pour former le radical cation ABTS^{•+}. Avant utilisation, la solution est diluée pour obtenir une absorbance voisine de 0,70 à 734 nm à température ambiante. En effet, la réaction est toujours incomplète, elle commence immédiatement mais ne se stabilise qu'après 12 heures au minimum.

La solution obtenue est stable lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière et à température ambiante.

L'activité antioxydante est mesurée par addition de 20µl de chaque extrait dilué à partir de 5 concentrations avec une solution diluée de radical ABTS^{•+} (2 ml). L'absorbance est mesurée à 734 nm après 5 minutes d'incubation à l'obscurité.

❖ Expression des résultats

L'activité des composés est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de poudre (mg EAA/g de poudre (Annexe I).

Les pourcentages d'inhibitions (PI) en appliquant la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = [(A_T - A_E) / A_T] \times 100$$

Ou :

A_T: absorbance du témoin (blanc)

A_E: absorbance de l'extrait après 5 minutes de contact à l'obscurité avec l'antioxydant

Dans cette méthode, la capacité antioxydante est exprimée en mg EAA/g de poudre

III.5. Etude statistique

Les résultats rapportés sur les activités antioxydante des extraits des deux plantes étudiées sont exprimés par les moyennes plus ou moins les écarts types standards des trois mesures. Pour la comparaison des résultats obtenus, une ANOVA est réalisé à l'aide d'un logiciel (STATISTICA 5,5) et le degré de signification des données est pris à la probabilité ($P \leq 0.05$).

Dans notre travail nous avons étudié la teneur en composés phénoliques, les flavonoïdes, DPPH et pouvoir réducteur de 162 extraits des deux plantes *Pulicaria odora* et *Hyoscyamus albus*.

IV.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait des deux plantes a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de poudre. On remarque d'après tous nos résultats, que les teneurs en ces composés varient selon la nature du solvant, temps et température.

a. *Pulicaria odora*

➤ Solvant 100%

Selon la figure N°10, on remarque qu'à 50°C et 70°C augmentation progressive avec le temps (méthanol). L'analyse statistique a montré qu'il existe des différences significatives à $p < 0,05$ entre les extraits sauf pour extrait acétonique et méthanolique à 30°C /2h et 4h.

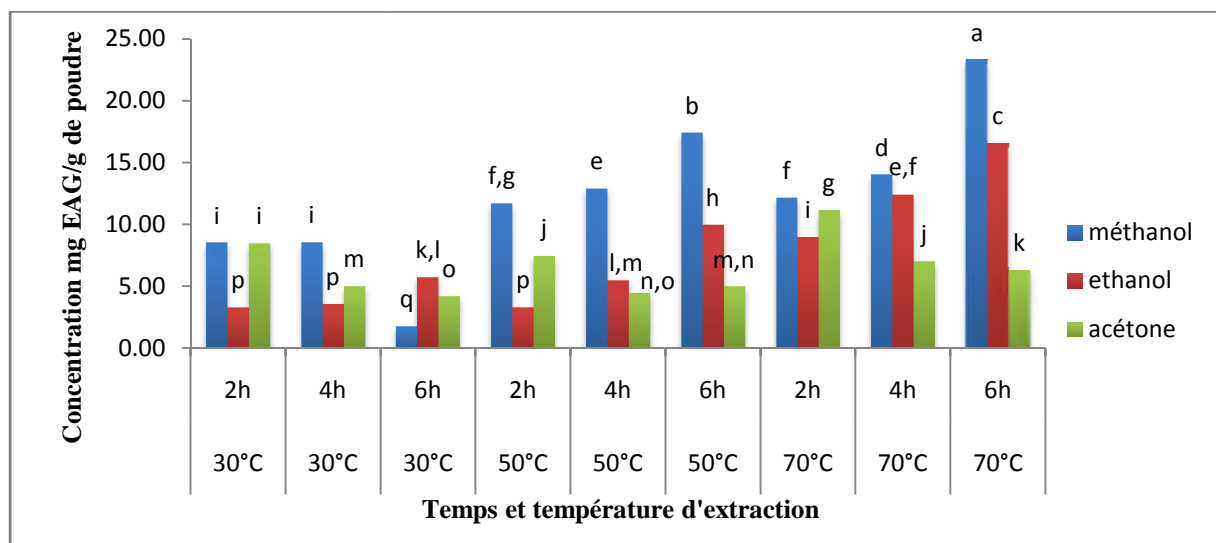


Figure N°10 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 80%

Selon la figure N°11, on remarque que la teneur de l'extrait acétonique à 30, 50 et 70°C augmente avec l'augmentation du temps et à 70°C/6h donne une meilleur teneur avec une concentration de $35,93 \pm 0,32$ mg EAG/g de poudre suivie par le méthanol à 50°C /6h

(34,59±0.24 mg EAG/g de poudre), alors que les restes des extraits ont des concentrations variables.

Comme le montre clairement le graphe, il n'existe pas de différences significatives ($p < 0,05$) entre l'éthanol 70°C/2h, l'acétone 30°C/6h et le méthanol 70°C/6h .acétone 30°C/4h, 50°C/2h et 70°C /4h, méthanol 30°C/2h et 4h.

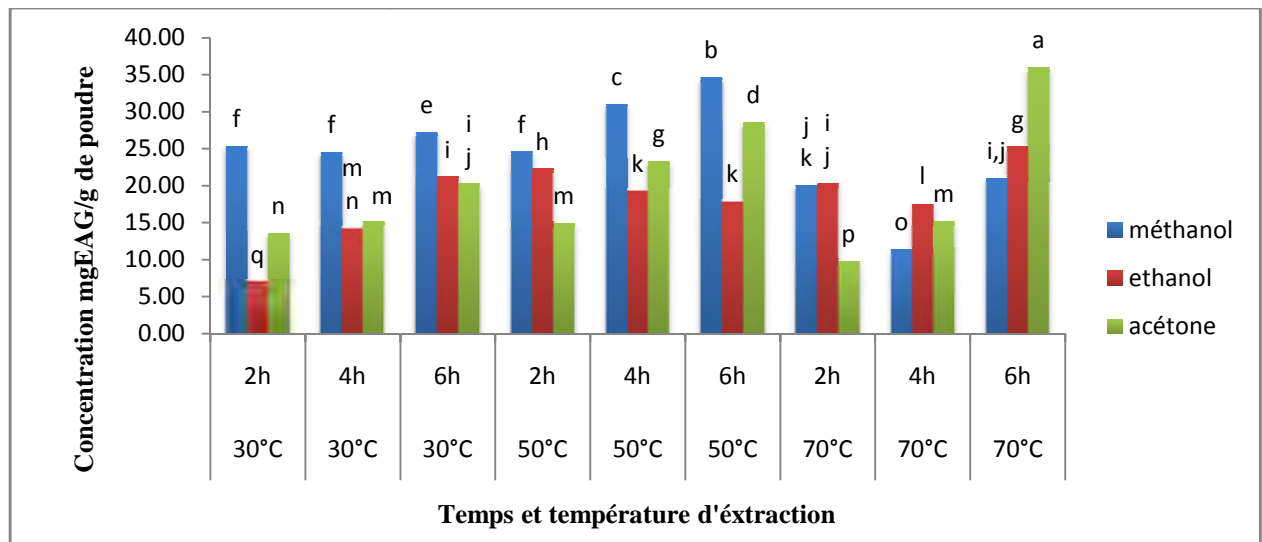


Figure N°11 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 50%

D'après les résultats (figure N°12), on constate que le méthanol 50°C/2h donne une meilleure teneur en polyphénols, avec une valeur de $270,58 \pm 0,02$ mg EAG/g de poudre, suivie par le méthanol à 30°C/2h avec une teneur de $195,68 \pm 0,63$ mg EAG/g de poudre, l'acétone a des teneurs variables alors que l'éthanol n'est pas considéré comme un bon solvant d'extraction.

Les résultats représentés dans le graphe montrent qu'il existe une différence significative entre la concentration en polyphénols pour les extraits méthanoliques, tandis que pour l'extrait acétonique à 30°C/2h, 4h, 50°C/4h et 70°C/2h, il n'existe pas de différences significatives, il en est de même pour l'éthanol.

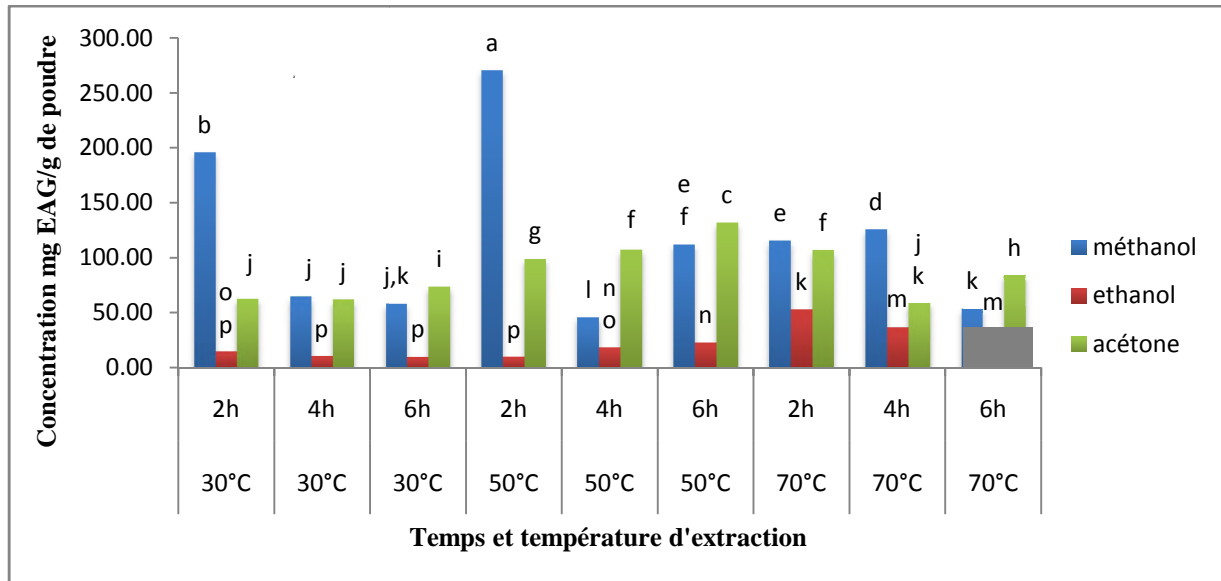


Figure N°12 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait de *Pulicaria odora* .

b. *Hyoscyamus albus*

➤ **Solvant 100%**

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les trois solvants pour chaque couple temps, température, sauf pour le méthanol et éthanol à 30°C/2h.

Les trois solvants extraient les teneurs les plus élevées à 70°C pour chaque temps et la meilleure teneur a été attribuée au méthanol 70°C/4h avec une concentration de (16,47± 0,22 mg EAG/g de poudre) figure13.

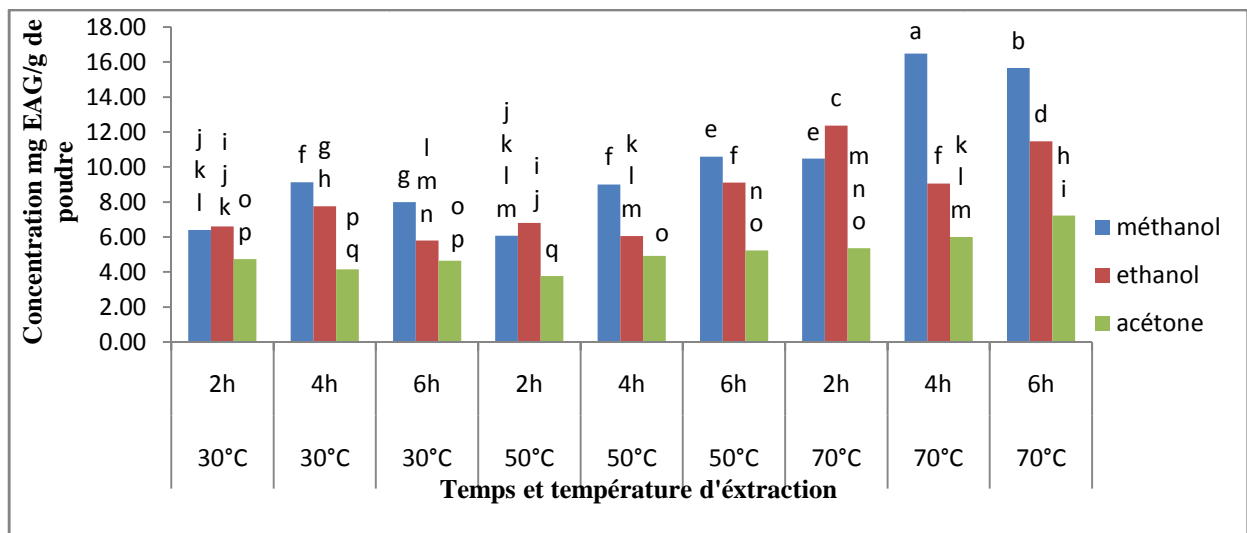


Figure N°13 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d' *Hyoscyamus albus* .

➤ Solvant 80%

D'après les résultats, on remarque que le méthanol 70°C/ 6h donne la meilleure teneur en polyphénols, comparés au méthanol 100% qui a donné la teneur la plus élevée durant 4h d'extraction à la même température.

L'analyse statistique effectuée révèle qu'il n'existe pas de différences significatives entre les extraits éthanolique 30°C/2h, 6h et 50°C/2h, l'extrait méthanolique 50°C/4h ,70°C/2h et même pour l'acétone 50°C/6h, 70°C/4h (figure 14).

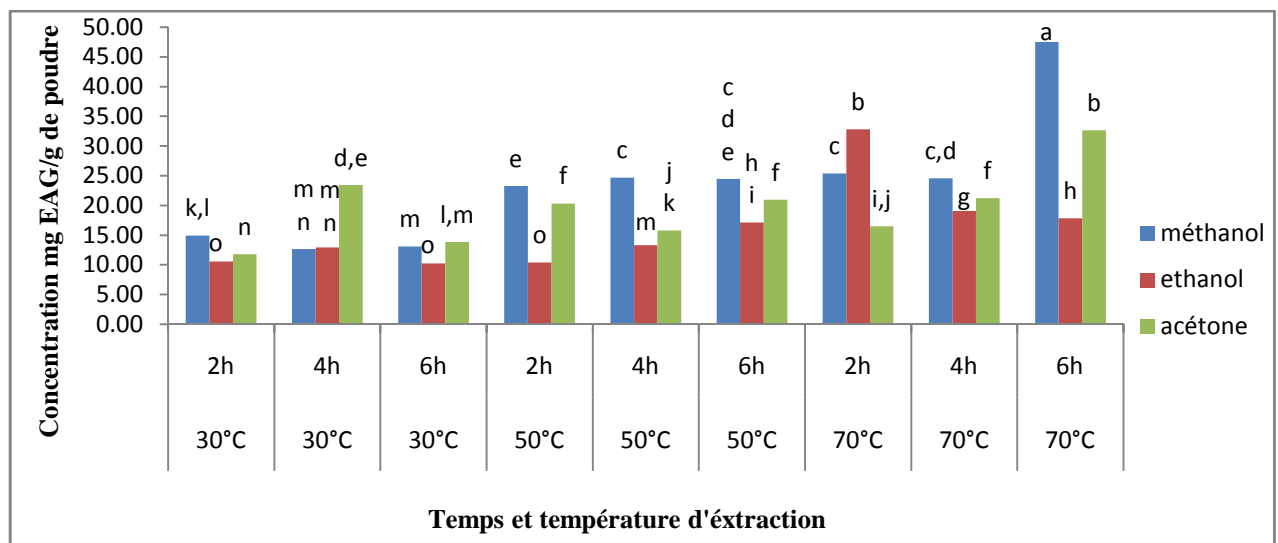


Figure N°14: Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d'*Hyoscyamus albus* .

➤ Solvant 50%

L'étude statistique montre qu'il n'existe pas des différences significatives ($p < 0,05$) pour l'acétone 30°C/4h, 50°C/6h, 50°C/4h et 70°C/ 6h.

Les résultats révèlent qu'à partir de 50°C, le meilleur solvant d'extraction des polyphénols est l'acétone avec une teneur maximale de $(148,58 \pm 5,72 \text{ mg EAG/g de poudre})$ durant 2h d'extraction par rapport à l'éthanol et le méthanol (figure 15).

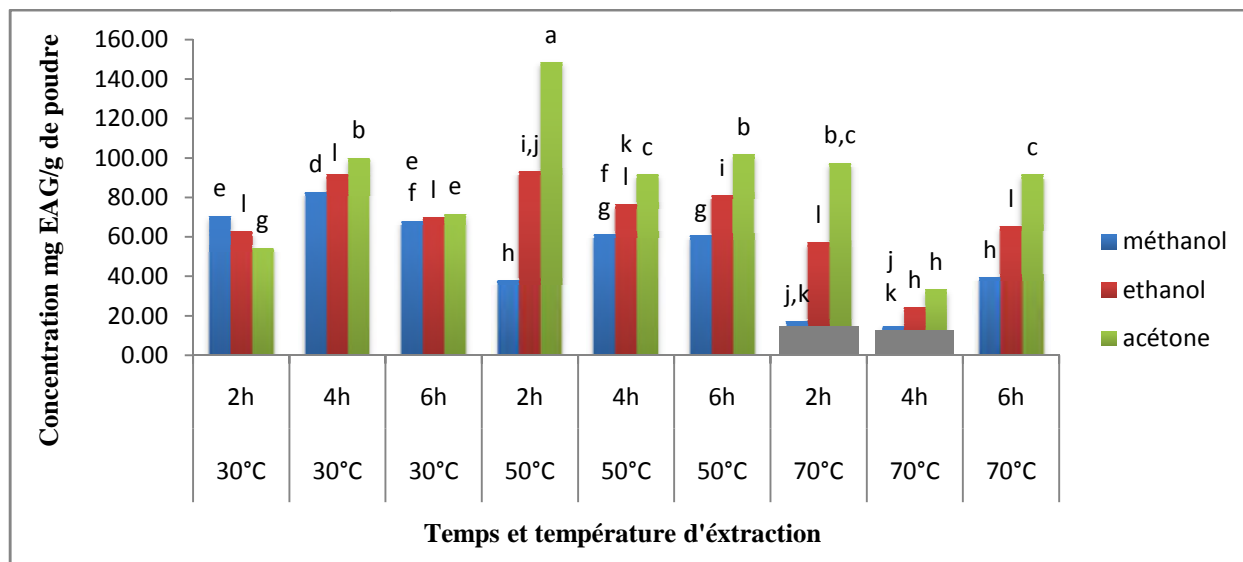


Figure N°15 : Teneurs en composés phénoliques de l'extrait d' *Hyoscyamus albus* .

Discussion des résultats

Dans notre étude, la teneur en polyphénols est de l'ordre de 14.35 ± 0.73 et 6.99 ± 0.16 mg EAG/g de poudre pour l'éthanol 50% et 80% à 30°C/2h.

Djeridane *et al.* (2006) ont trouvé des teneurs en polyphénols dans trois plantes de la famille des asteracées, de 32,32 ; 20,38 ; 13,06 mg EAG/g de poids sec cela en utilisant l'éthanol 70% comme solvant d'extraction.

Cette différence entre nos résultats et les résultats des auteurs, peut être dû au fait que les auteurs ont récolté leurs plantes dans une région saharienne, en été et ils ont procédé à une délipidation de leurs extraits, alors que notre plante a été récoltée au mois de mars et les dosages ont été effectués sur des extraits bruts.

La solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant et le degré de polymérisation des composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008). La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (Bano *et al.*, 2003).

Plusieurs facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographique et climatique) (Generalic *et al.*, 2012), facteurs génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante et la période de stockage ont une forte influence sur les composés phénoliques (Benhouda *et al.*, 2014).

Dans le travail réalisé par Alghazeer *et al.* (2012) sur l'extraction par le méthanol de cinq plantes médicinales libyenne dont *Hyoscyamus albus* fait parti, il a obtenu une teneur en polyphénols de 48.54 mg EAG/g poids sec.

L'étude effectuée par Benhouda *et al.* (2014) sur les extraits variés de *Hyoscyamus albus* a montré que les teneurs de ces derniers est de 111.1 µg EAG/mg de l'extrait méthanolique.

Une étude menée par Quy Diem Do *et al.* (2013), sur les extraits lyophilisés de *Limnophila aromatica* (Plantaginacées) ont constaté que la teneur en polyphénols des extraits diminue avec l'augmentation de la teneur en eau dans le solvant aqueux, sauf pour le méthanol, dans l'ordre suivant: d'éthanol 100% > d'acétone 100% > acétone aqueuse 75 % > méthanol 75% > méthanol 100% > éthanol 75% > d'éthano 50% > acétone 50% > méthanol 50% > eau.

Tous ces résultats ne corroborent pas avec les nôtres, selon Pinelo *et al.* (2004), la matrice végétale, les solvants utilisés dans l'extraction peuvent être à l'origine de ces différences. Et enfin la méthode et les conditions d'extraction (température et temps) peuvent l'être aussi (Robards, 2003). Le méthanol est un solvant efficace par comparaison avec tous autres utilisés pour extraire les polyphénols à partir des feuilles de *Marrubium vulgare* (Lamiacées) Bouterfas *et al.* (2014), ces résultats sont en accord avec nos résultats. Plusieurs études ont confirmé que la teneur en polyphénols dépend de la polarité du solvant (Turkmen *et al.*, 2005 ; Bouterfas *et al.*, 2014 ; Falleh *et al.*, 2008) .

D'après le travail effectué par Maja *et al.* (2012) sur la détermination des composés phénolique de *Salvia officinalis* (Lamiacées), ils ont constaté que les extraits éthanoliques et acétonique à 50% obtiennent la meilleure teneur en polyphénols à une température d'extraction de 60°C, cela peut être due au coefficient de diffusion et la forte solubilité des solvants utilisés. Par contre, nos résultats à 50% pour les deux solvants (éthanol, acétone) respectivement, ont donné une meilleure teneur en polyphénols à 50°C pour nos deux plantes étudiées.

Spigno *et al.* (2007) ont rapportés que la température a un effet sur l'efficacité de l'extraction, car la température d'extraction affecte , la solubilité, le taux de transfert de masse, et la stabilité des composés phénoliques.

Les solvants comme le méthanol, l'éthanol, et leur combinaison ont été employé pour l'extraction des composés phénoliques à partir des matières végétales, souvent avec

différentes proportions d'eau (Dai *et al.*, 2010). Le choix du solvant peut affecter la quantité et le taux des composés phénoliques extraits. Le méthanol s'est avéré être le plus efficace pour l'extraction des polyphénols d'un poids moléculaire faible, tandis que les flavonoïdes sont mieux extraits par l'acétone aqueux (Xu et Chang, 2007). L'éthanol est un autre solvant efficace aussi pour l'extraction des polyphénols et il est moins nocif pour l'homme (Dai *et al.*, 2010).

L'extraction des composés phénoliques à partir des plantes est aussi influencé par le temps et la température d'extraction, ce qui reflète les actions contradictoires de la solubilisation et la dégradation par oxydation (Robards, 2003). Par conséquent, il est important de faire le bon choix de procédure /méthode d'extraction afin de maintenir la stabilité des composés phénoliques (Dai *et al.*, 2010).

IV.2. Dosage des flavonoïdes

Après l'ajout du chlorure d'aluminium, une coloration jaunâtre est observée, ce qui traduit la contenance en flavonoïdes dans les extraits.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en équivalent milligrammes de quercétine par gramme de poudre en se référant à une courbe d'étalonnage.

a. Pulicaria odora

➤ Solvant 100%

Les résultats de la figure N°16 montrent que l'acétone donne une meilleure teneur en flavonoïdes par rapport aux autres solvants, donc il existe une différence significative à $p < 0.05$ entre les extraits acétoniques à différentes températures, temps et concentrations.

La meilleure teneur étant de $9,93 \pm 0,02$ mg EQ/g de poudre à $70^{\circ}\text{C}/6\text{h}$, alors que le méthanol et l'éthanol sont variable en fonction des paramètres cités.

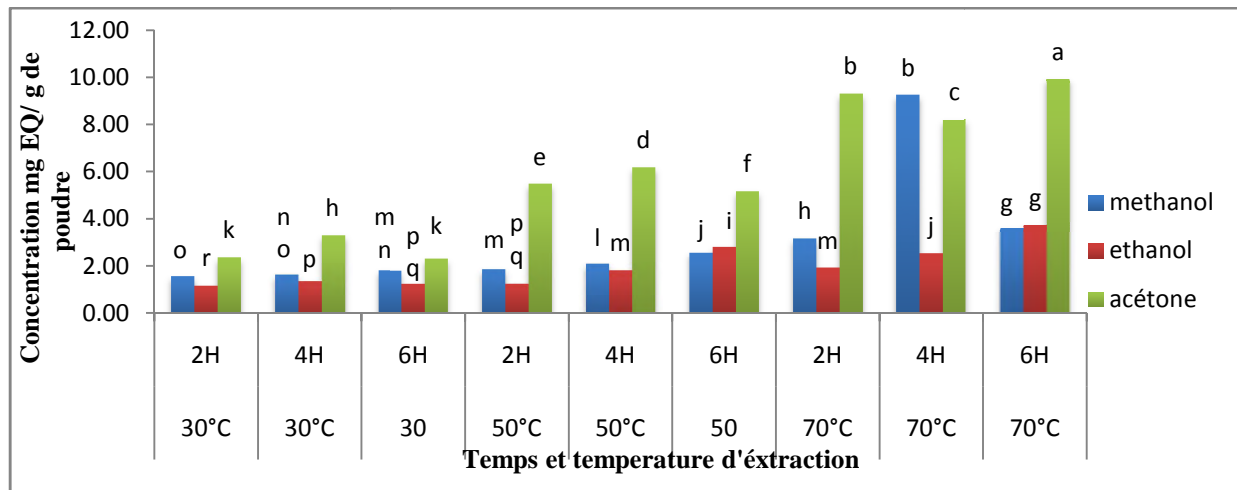


Figure N°16 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 80%

Les résultats de la figure N°17 montrent que les teneurs en flavonoïdes obtenus dans les extraits étudiés varient selon le solvant d'extraction dont la meilleur teneur est représentée par l'éthanol à 70°C /4h ($4.97 \pm 0,24$ mg EQ/g de poudre). L'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre le méthanol et éthanol à 70°C /6h ($p < 0.05$).

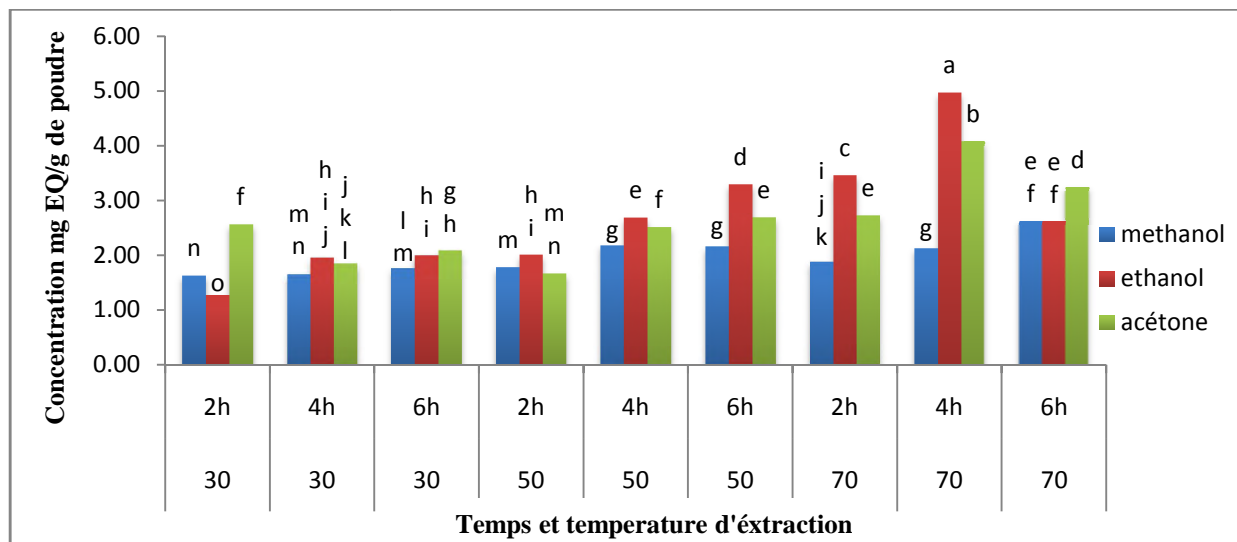


Figure N°17 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 50%

Selon nos résultats présentés dans la figure N°18, on constate que la teneur en flavonoïdes diffère selon les paramètres étudiés. On remarque à une température de 30°C, il y a une diminution des concentrations selon la durée d'extraction (2h, 4h) respectivement,

tandis que les extraits obtenus après 6h d'extraction il y'a une élévation de la teneur des flavonoïdes.

L'étude statistique a montré qu'il n'existe pas une différence significative à ($p < 0.05$) entre l'extrait acétonique 30°C /2h, 4h.

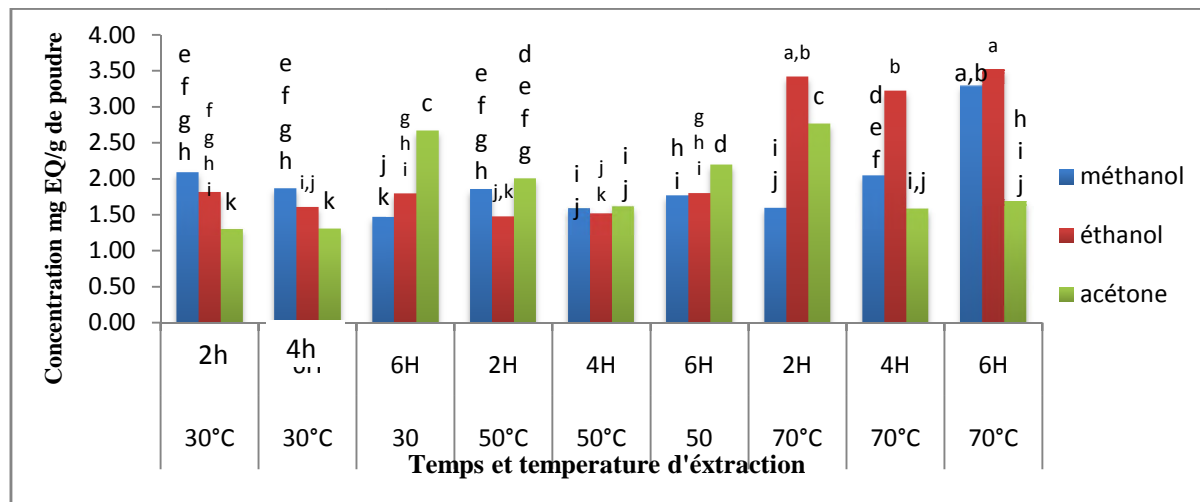


Figure N°18 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait de *Pulicaria odora*.

b. *Hyoscyamus albus*

➤ Solvant 100%

On remarque d'après la figure N°19 que le solvant qui donne une meilleure teneur en flavonoïdes est attribué à acétone ($12.29 \pm 0,01$ mg EQ/G de poudre) à 70°C/ 6h.

A une température de 30°C, on remarque que l'acétone donne une bonne teneur en flavonoïdes ($9.28 \pm 0,05$ mg EQ/g de poudre) suivi du méthanol ($5.91 \pm 0,05$ mg EQ/g de poudre) et enfin de l'éthanol avec des teneurs plus faibles ($3.05 \pm 0,24$ mg EQ/g de poudre) et d'après l'analyse statistique on remarque qu'il ya pas de différence significative pour l'éthanol à 30°C/2h, 4h.

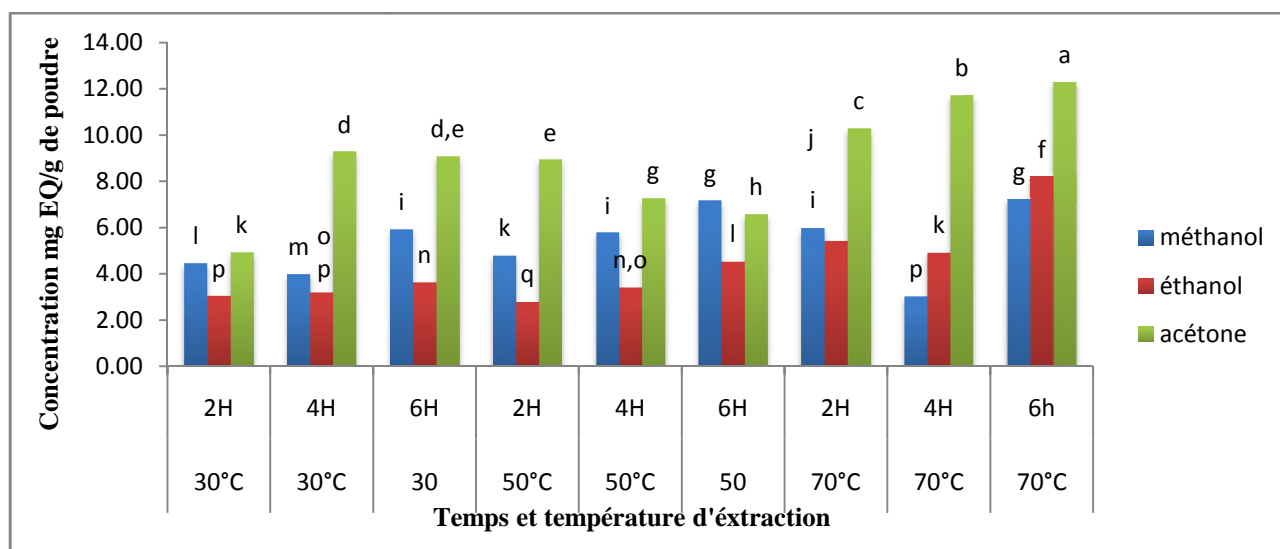


Figure N°19 : Teneur en flavonoïdes de l'extrait d' *Hyoscyamus albus* .

➤ Solvant 80%

Les teneurs en flavonoïdes de la figure 20 sont variables selon les paramètres étudiés. A tous les temps, la teneur la plus élevée est attribuée à l'acétone ($7.47 \pm 0,01$ mg EQ/g de poudre pendant 4h/70°C). On constate qu'à une température de 50°C, la concentration des flavonoïdes pour l'acétone augmentent avec l'augmentation du temps pour atteindre une teneur de ($6.76 \pm 0,01$ mg EQ/g de poudre). L'analyse statistique a déduit qu'il existe des différences significatives entre les solvants sauf pour le méthanol 50°C /2h et 4h à $p < 0.05$.

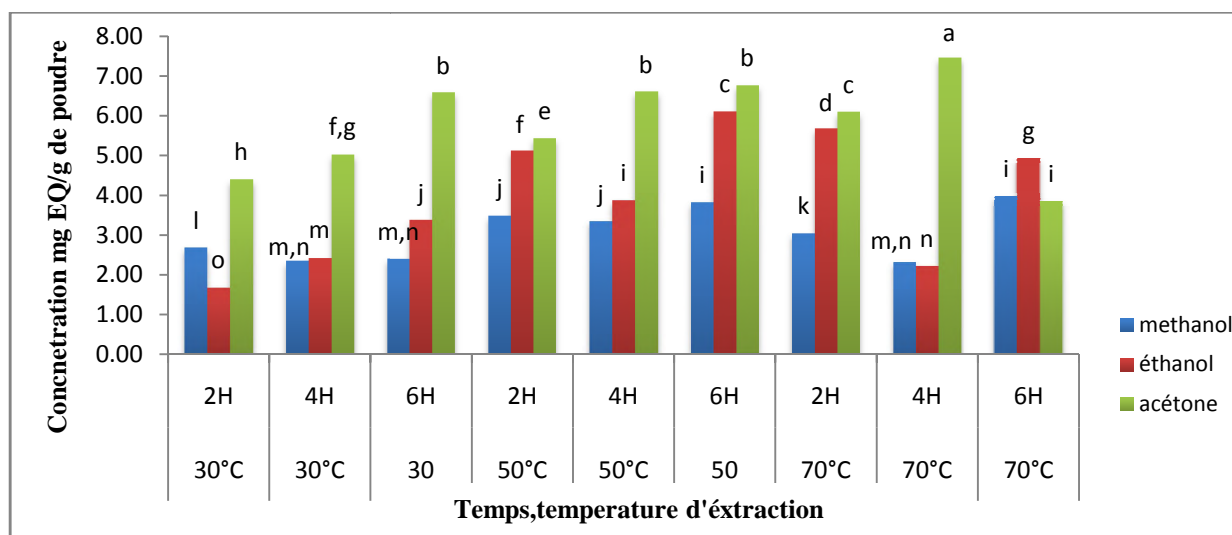


Figure N°20 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait d' *Hyoscyamus albus* .

➤ Solvant 50%

D'après la figure N°21, la meilleure teneur en flavonoïdes est attribuée à l'acétone 70°C/6h (5,58± 0,33 mgEQ/g de poudre) et une faible teneur est marquée par le méthanol 30°C/2h (1,71 ± 0,06mg EQ/g de poudre).

L'étude statistique a prouvé qu'il n'existe pas une différence significative entre les teneurs l'extrait acétonique à 50°C/6h ,70°C/2h, 70°C/6h à $p < 0.05$.

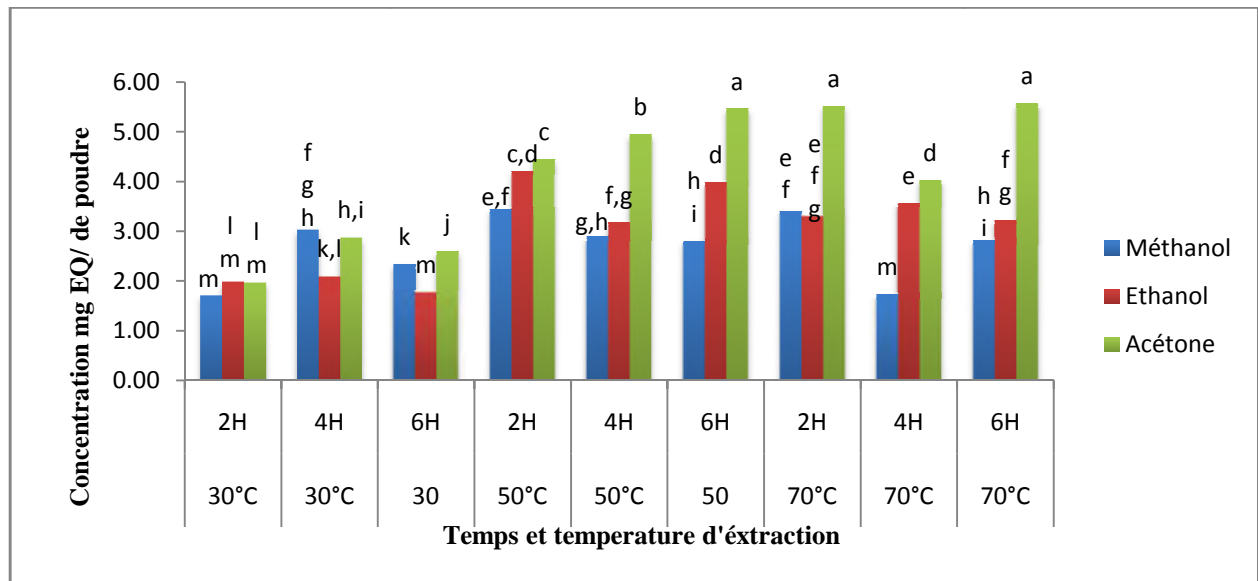


Figure N°21: Teneurs en flavonoïdes de l'extrait d'*Hyoscyamus albus* .

Discussion des résultats

Dans une étude réalisée par (Bousselsela *et al.*, 2012) sur les extraits méthanoliques des feuilles de *Hertia cheirifolia* (Asteracée), les teneurs en flavonoïdes trouvés étaient de 8,98µg EAQ/mg d'extrait. Nos résultats en flavonoïdes en utilisant le méthanol est de (2.30 mg EAQ/ g de poudre).

Selon Falleh *et al.* (2008) et Ghasemi *et al.* (2011), la teneur en flavonoïdes peut être liée aux conditions climatiques (température chaude, exposition solaire élevée, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

Dans l'étude apportée par Musa *et al.* (2011), ils ont constaté que l'extrait éthanolique à 80% des feuilles du *Monopetalum* de *Limoniastrum*, du *Monandra* de *Bauhinia* et du *Callicarpa nudiflora* ont montrés la meilleure concentration. Ces résultats sont en accord avec les nôtres.

Ces mêmes auteurs ont confirmé que le mélange d'eau distillée avec un solvant organique (méthanol et éthanol) améliore le rendement en flavonoïdes par comparaison à l'eau ou au solvant organique utilisé séparément.

IV.3. Evaluation de l'activité antioxydante

De nombreuses méthodes sont utilisées afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Trois tests ont été utilisés : le radical DPPH, ABTS, et le pouvoir réducteur.

IV.3.1. Activité scavenging du radical DPPH

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant par la méthode du DPPH se fait en mesurant la diminution de la coloration violette vers le jaune, due à une recombinaison des radicaux DPPH (Popovici *et al.*, 2009).

Les figures N°22 jusqu'à N°27 illustrent le pourcentage scavenging du radical DPPH de nos extraits. Ces dernières montrent bien la différence d'activité anti-radicalaire entre les différents extraits selon le type de solvant, à différentes températures en fonction du temps.

a. Pulicaria odora

➤ Solvant 100%

La figure N°22 a révélé que l'extrait méthanolique a une activité anti-radicalaire très importante. Cependant le pourcentage d'inhibition le plus élevé est enregistré par l'acétone $90.09\% \pm 0,45$ à $70^{\circ}\text{C}/6\text{h}$ et la plus faible est obtenue par éthanol à $30^{\circ}\text{C}/2\text{h}$ avec un pourcentage de $8.49\% \pm 3,06$. L'étude statistique a révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre les extraits méthanoliques à $50^{\circ}\text{C}/2\text{h}$, 4h , 6h et à $70^{\circ}\text{C}/6\text{h}$ à ($p < 0.05$).

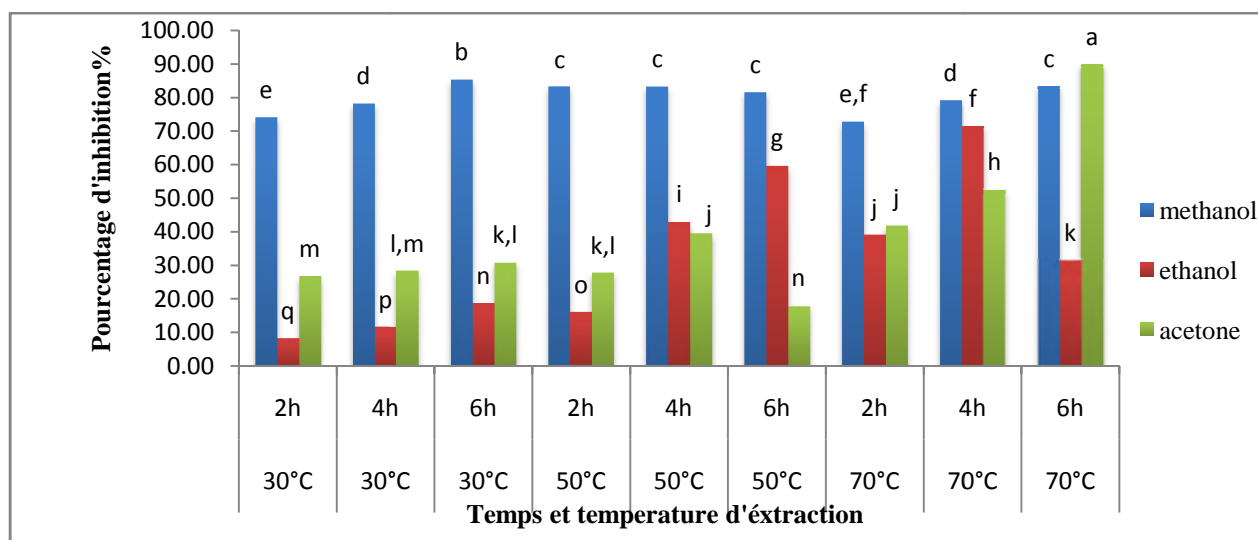


Figure N°22: Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 80%

L'analyse statistique a révélé qu'il n'existe pas de différence significative entre les extraits étudiés, dont la meilleure activité antioxydant est attribuée à l'acétone (87.12% \pm 0,53) à 50°C /4h, alors que la plus faible activité est marquée par l'éthanol à 70°C/2h (41.03% \pm 0,38).

Tous les extraits montrent des pourcentages d'inhibition supérieurs à 60% sauf pour l'éthanol 2h/30°C et 70°C /2h avec des valeurs inférieures à 50%.

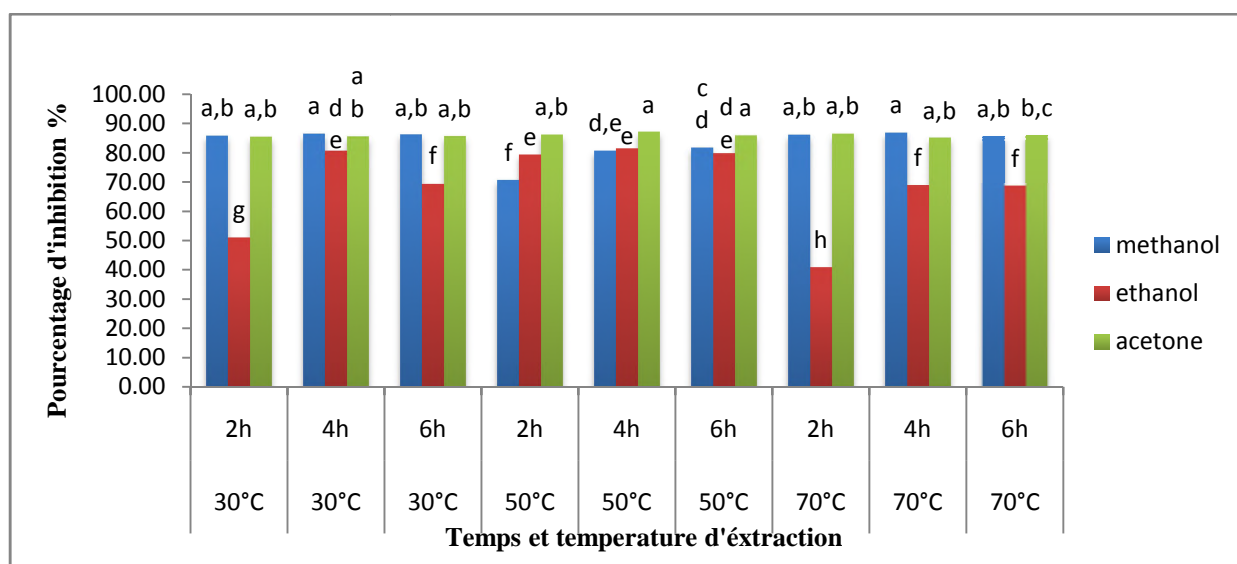


Figure N°23 : Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait de *Pulicaria odora*

➤ **Solvant 50%**

D'après la figure N°24 on remarque que le pourcentage d'inhibition des extraits étudiés sont presque semblables donc l'étude statistique a révélé qu'en générale il n'existe pas de différences significatives entre ses derniers à ($p < 0.05$). Tous les échantillons étudiés montrent des pourcentages d'inhibition supérieurs à 60%.

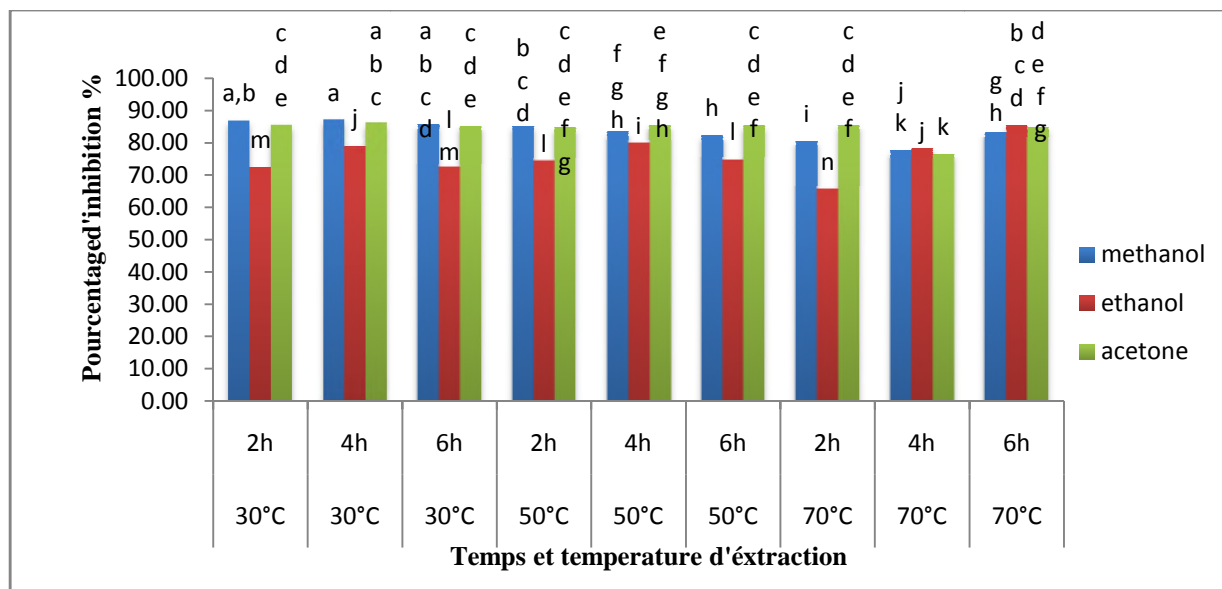


Figure N°24 : Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait de *Pulicaria odora*

b. *Hyoscyamus albus*

➤ **Solvant 100%**

Les résultats représentés dans la figure N°25 montrent qu'il y a une variation entre les paramètres étudiés. L'extrait méthanolique a enregistré les activités anti-radicalaires les plus importantes dont le pourcentage d'inhibition le plus élevé est marqué à 70°C/4h (84.14% ± 0,13), pour les deux autres solvants toutes les valeurs sont inférieures à 50%. La plus faible est attribuée à l'éthanol 30°C/4h. L'analyse statistique a révélé une différence significative entre les extraits méthanoliques à ($p < 0.05$).

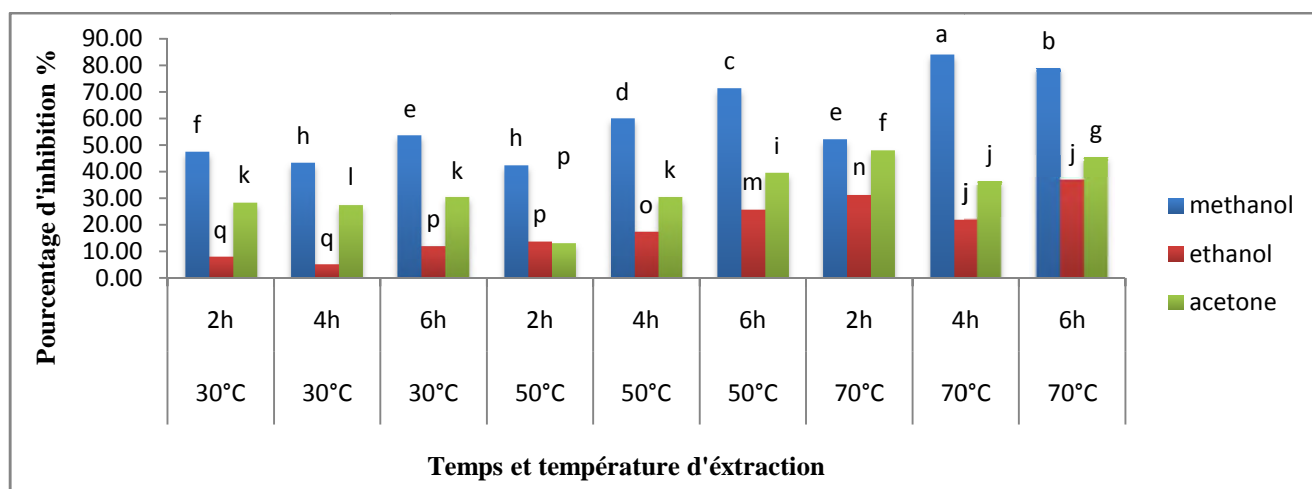


Figure N°25 : Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait d' *Hyoscyamus albus* .

➤ Solvant 80%

En générale l'analyse statistique a montré qu'il n'y a pas de différences significatives entre le méthanol et l'acétone. La meilleure teneur est marquée par le méthanol (85.15% ± 0,32) à 70°C /2h et la plus faible par l'éthanol (18.26% ± 0,94) à 30°C /2h.

On remarque aussi qu'à une température de 30°C, l'éthanol révèle qu'il y a une variation en fonction du temps, tandis qu'à 50°C et 70°C il y'a une différence plus au moins importante de l'activité antioxydant.

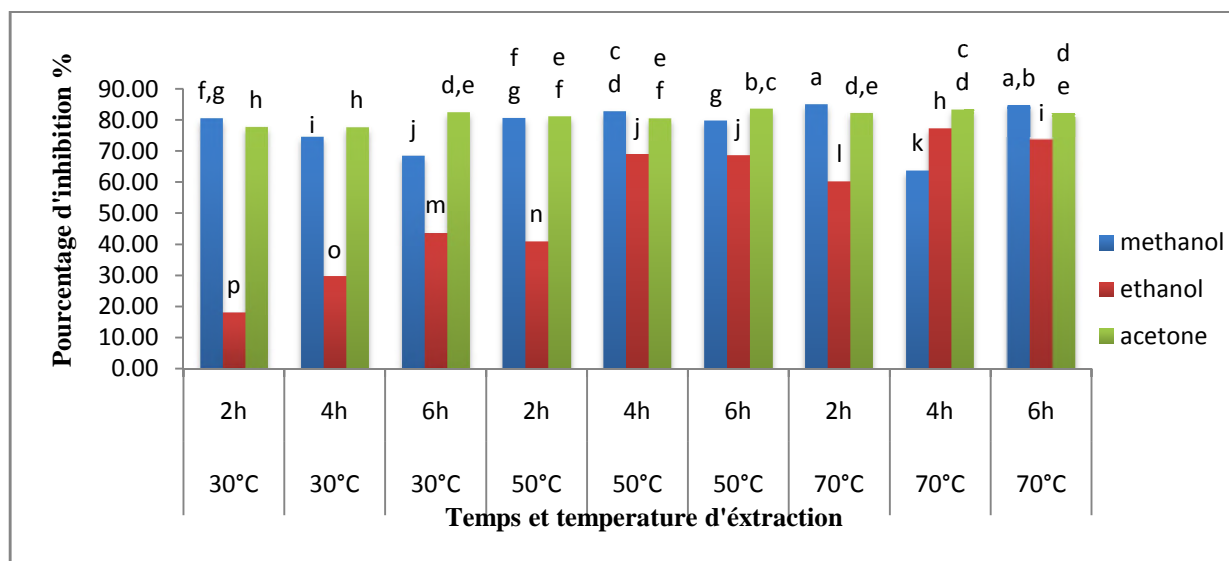


Figure N°26: Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 50%

D'après la figure N°27, on constate que tous les solvants ont un pourcentage d'inhibition qui dépasse les 40%. A une température de 70°C, on remarque qu'à chaque temps d'extraction (2h, 4h, 6h), les pourcentages d'inhibition des trois solvants augmentent respectivement (méthanol, éthanol et l'acétone). La meilleure et la plus faible activité antioxydant est attribuée au méthanol (85.59% ± 0,43) à 30°C/4h, (43.73% ± 0,56) à 30°/2h respectivement.

L'analyse statistique révèle qu'il n'y a pas une différence significative à ($p < 0.05$) entre les extraits acétonique et éthanolique à 70°C/ 2h, 4h, 6h.

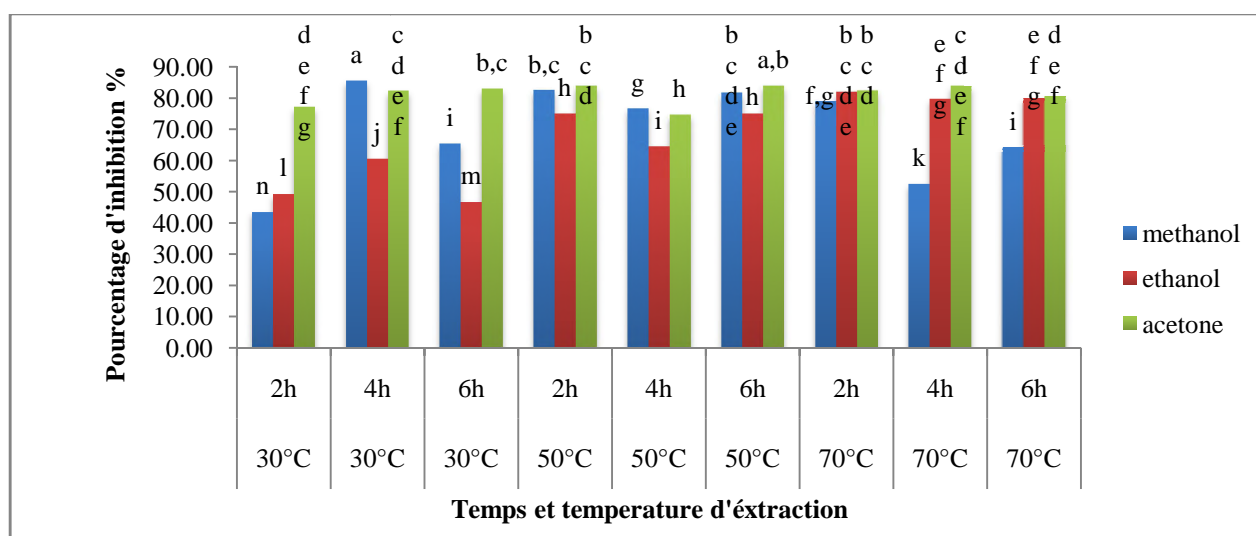


Figure N°27: Pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH de l'extrait de *Pulicaria odora*.

Discussion des résultats

La capacité antioxydante des composés phénoliques est associée à la disponibilité de ces derniers, qui agissent en tant que piègeurs des radicaux pour les donneurs d'hydrogène (Proestos *et al.*, 2013).

Un extrait possédant un composé phénolique qui contient un grand nombre de groupes hydroxyle a une activité antioxydant élevée (Arabshahi *et al.*, 2007).

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique et les flavonoïdes réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Kadri *et al.*, 2011).

D'après Chew *et al.* (2011), l'activité scavenger du radical DPPH diminue après l'atteinte d'une valeur maximale à 180 min d'extraction. Ce résultat peut être expliqué par le

fait que l'extraction prolongée augmenterait l'oxydation des composés phénoliques (Naczki et Shahidi 2004).

Alghazeer *et al.* (2012), ont constaté que l'*Hyoscyamus albus* a la plus faible activité antioxydante par rapport aux extraits examinés en utilisant le méthanol comme extracteur.

Pour nos résultats, on a remarqué que l'extrait méthanolique d'*Hyoscyamus albus* a enregistré l'activité anti-radicalaire la plus importante par rapport aux autres extraits, ceci peut être dû au choix du solvant et la solubilité de ce dernier.

Yang *et al.* (2012) ont suggéré que les molécules polaires présentes dans la matière végétale contribuent à l'augmentation de l'activité anti-radicalaire. La présence de plusieurs groupements hydroxyles peut aussi réagir avec les radicaux libres. L'activité antioxydante des extraits méthanoliques est probablement liée à la quantité et la qualité des polyphénols et flavonoïdes (Roudsari *et al.*, 2009).

Chew *et al.* (2011) ont travaillé sur *Centella asiatica* en utilisant l'éthanol comme solvant extracteur, ils ont trouvé que l'activité anti-radicalaire la plus élevée est enregistré à une concentration de 60% , ces résultats indiquent que cette plante a une forte capacité antioxydante à cette concentration en le comparant avec l'extrait pure, cette circonstance peut être due au fait que l'éthanol 100% ne pouvait pas extraire les composés phénoliques polaires qui ont eu la capacité antioxydante la plus élevée (Chirinos *et al.*, 2007).

IV.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude d'une substance à transférer un électron ou à donner un atome d'hydrogène. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Tepe *et al.*, 2005).

Les résultats obtenus sont exprimés en équivalent mg d'acide ascorbique par gramme de poudre (annexe I).

a. Pulicaria odora

➤ Solvant 100%

A l'issue des résultats obtenus, il s'est avéré que le méthanol présente un pouvoir réducteur plus important dont la teneur la plus élevée est de $32,18 \pm 0,22$ mg EAA/g de poudre, tandis que l'éthanol et l'acétone présentent le pouvoir réducteur le plus faible.

L'étude statistique a montré qu'il n'existe pas de différences significatives entre l'éthanol et l'acétone à 30°C/4h, 50°C/6h, 50°C/4h et 70°C/4h, le méthanol (30°C/4h et 6h) et l'acétone (50°C/2h et 6h).

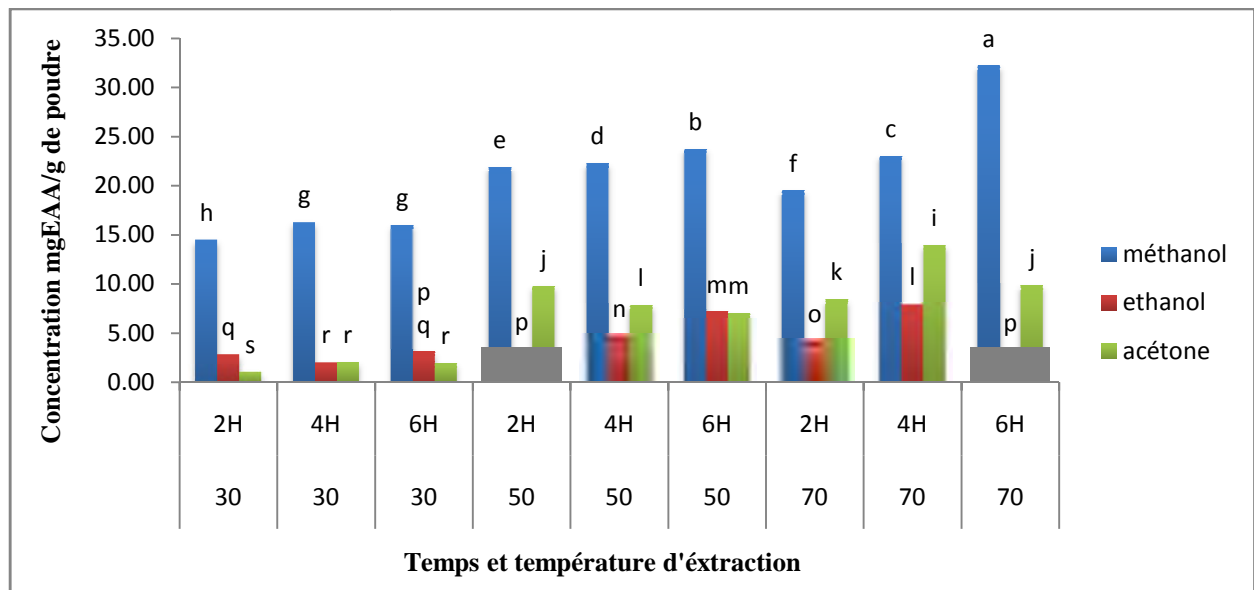


Figure N°28 : Activité réductrices de l'extrait de *Pulicaria odora* .

➤ Solvant 80%

Le test statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative ($p < 0,05$) entre l'acétone et l'éthanol à 30°C/4h, 30°C/6h, 50°C/4h et 70°C/2h.

Le pouvoir réducteur des extraits préparés à différents temps, températures et concentrations présentent des différences significatives. Dans le graphe précédent c'est le méthanol 100% qui a donné une activité réductrice la plus élevée, alors qu'à 80% c'est l'acétone et éthanol qui ont donné une meilleure activité. Le pouvoir réducteur du méthanol augmente avec l'augmentation du temps et température.

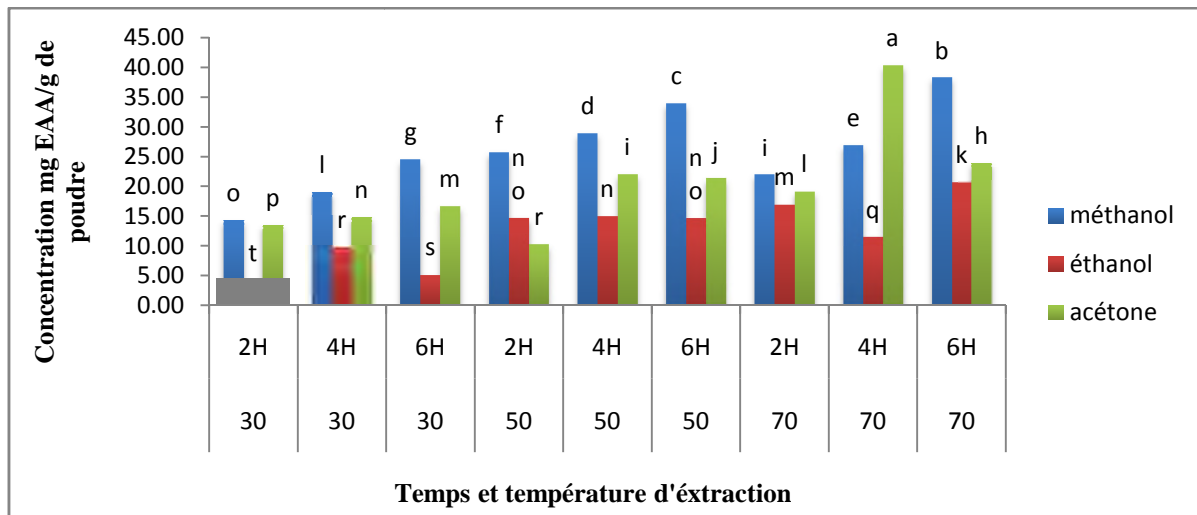


Figure N°29 : Activité réductrices de l'extrait de *Pulicaria odora*.

➤ Solvant 50%

D'après les résultats de l'analyse statistique, il n'existe pas de différences significatives à $p < 0,05$ entre le méthanol et l'éthanol à 30°C /2h ,50°C/4h et 70°C/4h.

A l'issu des résultats obtenus de la figure N°30, il s'est avéré que l'extrait acétonique enregistre le pouvoir réducteur le plus élevé par apport aux deux autres extraits et la meilleure activité réductrice a été observée à 50°C/2h et 6h (45.67 ± 0.02 EAA/g de poudre, 43.45 ± 0.39).

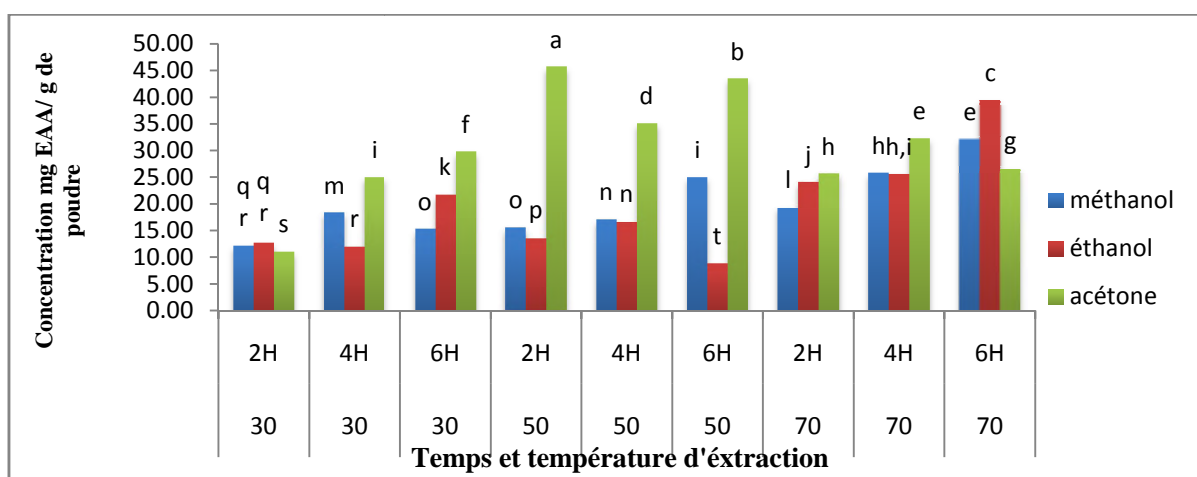


Figure N°30 : Activité réductrices de l'extrait de *Pulicaria odora*.

b. *Hyoscyamus albus*

➤ Solvant 100%

D'après le graphe, on remarque que le méthanol a une bonne activité réductrice selon tous les paramètres, alors que les extraits acétone et éthanol ont des activités faibles.

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques présentent des différences significatives à ($p < 0,05$) sauf à 70°C /2h et 4h.

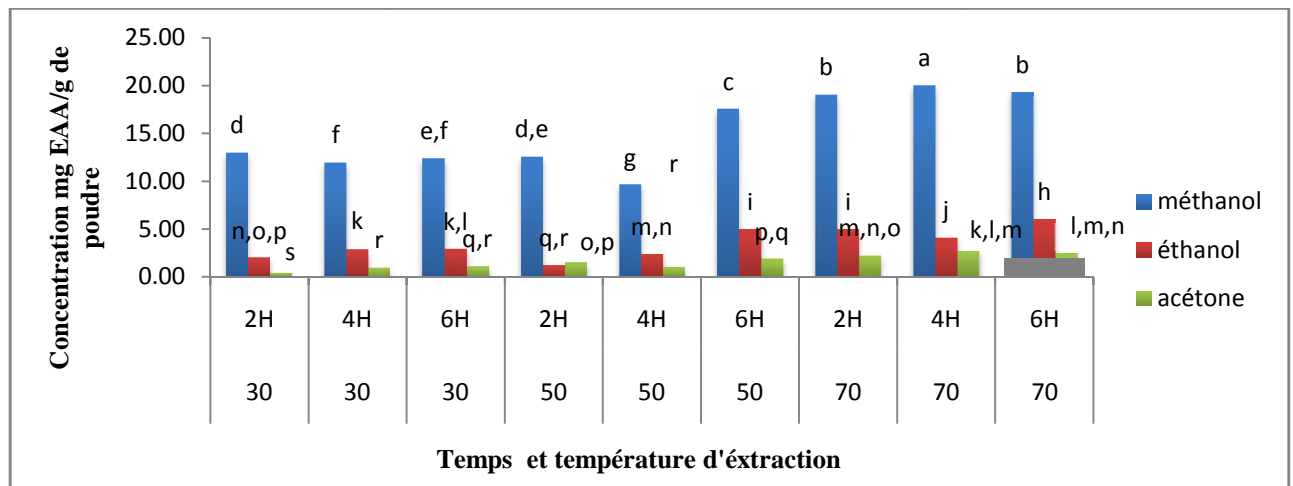


Figure N°31 : Activité réductrices de l'extrait d'*Hyoscyamus albus*.

➤ Solvant 80%

Selon le graphe N°32, on constate que l'activité réductrice la plus élevée est présentée par l'extrait méthanolique après 6h d'extraction à 50°C ($20.61 \pm 0,46$ mg EAA /g de poudre) suivie par l'éthanol à 70°C /4h ($20,01 \pm 0,28$ mg EAA /g de poudre) , alors que l'acétone ne donne pas une bonne activité. L'analyse statistique montre que presque les trois solvants présentent des différences significatives à $p < 0,05$.

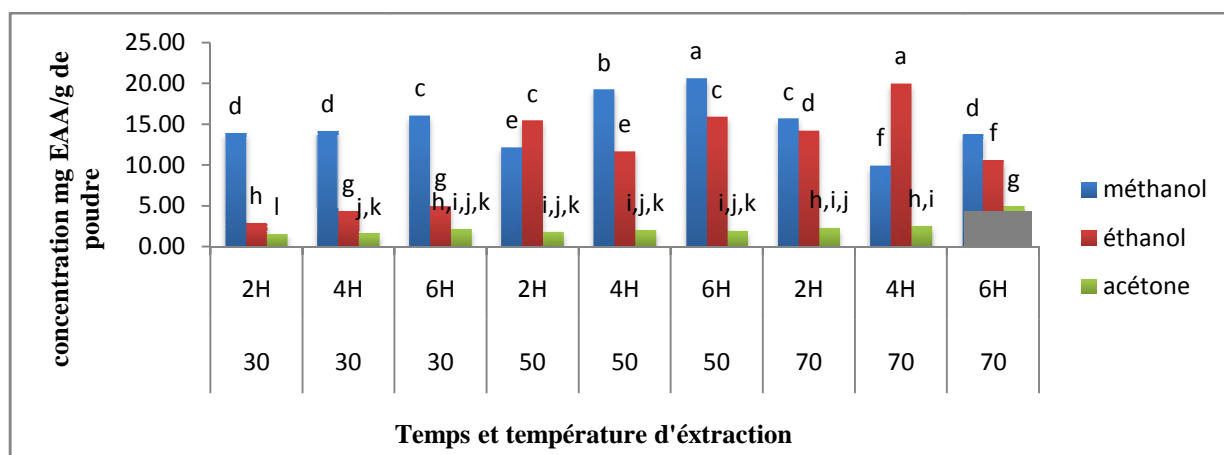


Figure N°32 : Activité réductrices de l'extrait d' *Hyoscyamus albus*.

➤ Solvant 50%

L'analyse statistique montre que les solvants utilisés pour l'extraction présentent des différences significatives ($p < 0,05$) sauf entre le méthanol, l'éthanol et acétone à (30°C/2h, 6h), (50°C/2h) Le pouvoir réducteur de l'éthanol à 70°C diminue en fonction du temps alors qu'à 50°C l'activité réductrice augmente avec l'augmentation du temps. Le méthanol à 50°C augmente avec l'augmentation du temps, alors que les valeurs de l'acétone sont variables figure N°33.

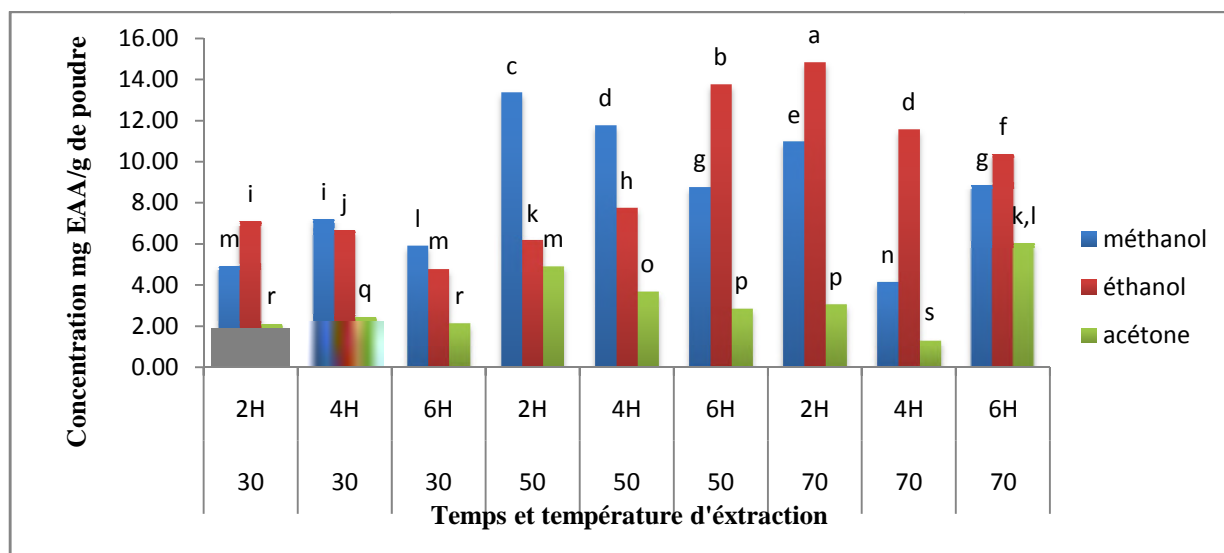


Figure N°33 : Activité réductrices de l'extrait d' *Hyoscyamus albus*.

Discussion des résultats

D'après tous les résultats on constate que pour *Hyoscyamus albus* l'acétone ne donne pas une bonne activité réductrice

L'activité réductrice d'un composé est liée à sa capacité de transfert d'électron et peut donc, servir d'indicateur significatif de son activité antioxydant (Ajila *et al.* 2007).

Une étude menée par Turkmen *et al.* (2007), sur des extraits de thé noir, en utilisant des solvants de différentes polarités à différents temps d'extraction a montré que les solvants à 50% ont donné des valeurs plus élevées par rapport aux solvants purs. À 2 h d'extraction, les valeurs du pouvoir réducteur des extraits de thé sont classées par l'ordre décroissant suivant : Acétone 50%, éthanol 50%, méthanol de 50%, méthanol 100%, éthanol 100% et acétone 100% respectivement.

Un solvant aqueux polaire dissout les polyphénols les plus polaires des plantes avec un pouvoir réducteur plus élevé à différents temps d'extraction (Turkmen *et al.*, 2007).

Nos résultats pendant 2h d'extraction des deux plantes sont dans l'ordre suivant : méthanol 100% suivi par l'éthanol 50%, le méthanol 50%, l'éthanol 100%, l'acétone 50% pour *Pulicaria odora*, tandis que pour *l'Hyoscyamus albus* : le méthanol 100% ,l'acétone 50% , l'éthanol 50% ,methanol 50%, l'ethanol 100% et l'acétone 100%.

IV.3.3. Activité scavenging du radical ABTS

Les extraits méthanol 50% /50°C/2h, acétone 50% /50°C/2h ont été choisis pour l'évaluation de l'activité antioxydante, la diminution de la coloration du radical ABTS après 5 minutes d'incubation a donné des absorbances de 0.097 et 0.068 avec des pourcentages d'inhibition 82.86% et 89.51% respectivement.

Une étude menée sur les extraits méthanoliques de la partie aérienne de trois espèces de sauge, *Salvia officinalis*, *Salvia glutinosa* et *Salvia sclarea* a montré que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS était de 89%, 81.72% et 64% respectivement (Miliauskas *et al.* 2004).

IV.3.4. Calcul des IC₅₀ du radical DPPH

Dans notre étude, le calcul de l'IC₅₀ est estimé à partir de la teneur la plus élevée en polyphénols. Cette valeur est inversement liée à la capacité antioxydant d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical de 50%. Plus l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydant du composé testé est importante (Villano *et al.*, 2007).

Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits des feuilles de *Pulicaria odora* et *Hyoscyamus albus* sont indiquées dans le tableau V.

Tableau IV : Valeurs des IC₅₀ des différents extraits des deux plantes déterminées par le test DPPH.

Espèce	Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
<i>Pulicaria odora</i>	Extrait méthanolique 50% à 50°C pendant 2h	8,07 ±0,17
<i>Hyoscyamus albus</i>	Extraits acétonique 50% à 50°C pendant 2h	7,28±0,10
	Acide ascorbique	0,05±0,01

En comparant les IC₅₀ des deux extraits, on constate que l'acétone représente l'extrait le plus actif avec une valeur de 7,28 mg /ml pour *Hyoscyamus albus*, tandis que l'activité antiradicalaire la plus faible est observée dans l'extrait méthanolique de *Pulicaria odora* avec un IC₅₀ d'environ 8,07mg/ ml. La valeur de l'IC₅₀ du standard acide ascorbique est plus importante que les deux extraits testés.

L'IC₅₀ est inversement lié à l'activité antioxydant d'un composé (Villano *et al.*, 2009), Plus cette dernière est petite plus le pouvoir antioxydant est fort, ceci est en outre associé à une activité de piégeage des radicaux DPPH (kadri *et al.*, 2011).

Les valeurs des IC₅₀ du test DPPH obtenus dans une étude présenté par Talbi et al. (2015) sur les extraits méthnolique de *Nigella Sativa* (Ranunculaceae) sont plus élevées que celle enregistrée pour l'acide ascorbique, alors que, c'est ce dernier qui a démontré une meilleure activité pour nos résultats. Les polyphénols contenus dans les extraits de *Nigella Sativa L.* sont probablement responsables de l'activité antioxydant de ces extraits (Fabienne, 2013).

Les résultats trouvés par Benhouda *et al.* (2014), montrent que la valeur de l'IC₅₀ d'*Hyoscyamus albus* est de l'ordre de 75.19 ± 0.211 µg/g pour un extrait méthanolique, en utilisant l' α - tocophérol comme antioxydant de référence, Tandis que nos résultats pour

Hyoscyamus albus de l'extrait acétonique est de $7,28 \pm 0.10$ mg/ml avec l'acide ascorbique comme standard.

Dans le présent travail, notre intérêt est porté d'une part sur le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes), d'autre part sur l'évaluation des activités anti-radicalaires et réductrices des extraits de *Pulicaria odora* et *Hyoscyamus albus* de la partie aérienne.

L'étude quantitative des polyphénols totaux des extraits de *Pulicaria odora* révèle que le méthanol 50%/50°C/2h a donnée la meilleure teneur, alors que la teneur en flavonoïdes des extraits de cette plante est attribuée à l'acétone 100% /70°C/6h.

Les résultats des extraits de *Hyoscyamus albus* ont montré que l'acétone est le meilleur solvant d'extraction des polyphenols à 50% /50°C/2h et les flavonoïdes à 100%, 70°C/6h.

L'activité antioxydante des extraits a été testée par les méthodes suivantes : DPPH, pouvoir réducteur et ABTS. D'après les résultats des tests du DPPH et du pouvoir réducteur pour *Pulicaria odora*, on a constaté que l'acétone 100%/70°C/6h et le 50%/50°C/4h ont donné une meilleure activité anti-radicalaire et réductrice respectivement, tandis que pour *Hyoscyamus albus* c'est le méthanol 50%/30°C/4h qui a donné un meilleur pourcentage d'inhibition et un pouvoir réducteur important est noté pour le méthanol 80%/50°C/6h.

Les extraits ayant donné les meilleures teneurs en polyphenols ont servi pour déterminer les IC50 pour les deux radicaux DPPH et ABTS. La meilleure capacité inhibitrice du radical DPPH est enregistrée par *Hyoscyamus albus*, et pour le radical ABTS c'est *Pulicaria odora*.

Afin de compléter le présent travail, il serait souhaitable de :

- ✓ Mieux évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de ces deux plantes, plusieurs tests doivent être appliqués sur d'autres parties de ses dernières afin de localiser la teneur maximale en polyphénols et d'autres métabolites secondaires ayant des effets intéressants ;
- ✓ Etudier l'effet d'autres paramètres d'extraction: granulométrie, extraction par épuisement, la variation du pH ;
- ✓ Tester d'autres méthodes d'extraction exemple : le soxhlet, la sonication, les microondes ;
- ✓ Tester d'autres activités biologiques de ces deux plantes telles que l'activité antibactérienne ;

- ✓ Purifier et identifier les principes actifs responsables de l'activité antioxydante des deux plantes étudiées par HPLC ;
- ✓ Effectuer une étude sur la toxicité des deux plantes avant l'utilisation des extraits de ces dernières dans la formulation alimentaire, pharmaceutique.

Références bibliographiques

A

Ajila C.M ., Naidu K.A., Bhat, S. G. et Prasada R.U.J.S. 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. Food Chemistry 105: 982-988.

Alghazeer R., El-Saltani H., Saleh N., Al-Najjar A. et Hebail F.2012. Antioxidant and anti microbial properties of five medicinal libyan plants extracts. Natural science 4: 5 325-333.

Arabshahi D.S., Devi D.V.et Urooj A .2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. Food Chemistry, 100:1100-1105.

B

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M., Gazin M.1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim Forsch*, 46:1086-1089.

Banik R.M., and Pandey D. K. 2008. Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from *Lantana camara* roots using response surface methodology. *Industrial Crops and Products* 27(3): 241–248.

Bano M.J., Lorente J., Castillo J., Benavente-Garcia O., Rio J.A., Otuno A., Quirin K.W., Gerard D.2003.Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis* and antioxidant activity, *J. Agric. Food Chemistry*, 51:4247–4253.

Bellakhdar. J. 1997. La pharmacopée traditionnelle marocaine. Antimicrobial activity of essential oils from the Greek sidertis species. *Pharmazie* 45, 70.

Benhouda A., yahia M.2014. Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from *hyoscyamus albus*' leaves in albinos rats. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Issn- 0975-1491 vol 6, issue 3.

Bousselsela., H Benhouda A., Yahia M., Benbia S., Ghecham A., Zidani A. 2012.In vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolia*'s leaves Vol.4, No.11, 825-831. *Natural Science* <http://dx.doi.org/10.4236/ns.411-110>.

Bouterfas K ., Mehdadi Z ., Benmansour D ., Khaled M.B.,Bouterfas M., Latreche A.2014. Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (*Marrubium vulgare* L.) Leaves International Journal of Organic Chemistry, 4: 292-308.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie, 28 : 25-30.

Bruneton J.2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4^e Ed.), Lavoisier.1292p.

Bushra S., Farooq A .et Ashraf M .2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. Molecules, 14: 2167-2180.

C

Cacace J.E., et Mazza, G. 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. Journal of Food Science 68: 209-215.

Chew, K. K., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., Wan Aida, W. M. and Ho, C. W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. International Food Research Journal 18: 571-578.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz and Pavón) tubers. Separation and Purification Technology 55(2): 217-225.

Cronquist A.J.1988. The evaluation and classification of flowering plants, 2nd. Edit., New York, New York Bot.Garden, 566 p.

Crozier A., Clifford M.N. et Ashihara H. 2006.Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet .Blackwell Publishing.

D

Dai J ; Russell J. Mumper. 2010.Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties *Molécules*, 15, 7313-7352.

Djeridane A., Youdfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds *Food chemistry* 97: 654-660.

E

Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Vanhaelen M.2005. Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology* 99:287–292.

F

Fabienne, O.L. 2013.La Nigelle, une épice d'intérêt médicinal. Thèse. P, 44-45.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N ., Trabelsi N ., Boulaaba M ., Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities *Comptes Rendus. Biologies* 331:372–379

Favier A. 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.

G

Gautier A. 8 juil. 2008. Manuel des plantes médicinales ou description, usage et culture des végétaux indigènes employés en médecine. L'Université Complutense de Madrid 1124 pages.

Gee J.M., Johnoson I.T. sept 2001.polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health (01-182).*current medicinal chemistry*. 8:11.

Generalic, I., Skroza, D., Surjaka, J., Mozinab, S.S., Ljubenkovc, I., Katalinic, A., Simate, V. and Katalinic, V. 2012. Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9, 441-456. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201100219>

Goullé J.P., Pépin G., Toulet V. D. et Lacroix C. (2004). Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de Toxicologie Analytique*, vol 16, n°1.

H

Halliwell, B. et Gutteridge.1999. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd edition, Clarendon Press, Oxford.

Halliwell B, Gutteridge.2006. Free Radicals in Biology and Medicine,Ed 4. Clarendon Press, Oxford.

Hammiche V., Merad R. et Azzouz M. 2013. Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. ISBN: 978-2-8178-0374-6 © Springer-Verlag Paris.

Hanbali, F., Akssira, M., Ezoubeiri, A., Chemseddoha, A., Gadhi, F. M., Benherraf, A., Blazquez, A.M. and Boira, H. 2005 .Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*,99: 399–401.

Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C., 2003. Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* ,3: 276–285.

K

Kadri A., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak M and Gdoura R.2011. Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. Essential oil from Tunisia *African Journal of Biotechnology* Vol. 10, pp. 3908-3914.

Kim H., Ralph J., Lu F., Ralph S.A., Boudet A.M., MacKay J.J., Sederoff R.R., Ito T., Kawai S., Ohashi, H. and Higuchi T. 2003. NMR analysis of lignins in CAD-deficient plants. Part 1. Incorporation of hydroxycinnamaldehydes and hydroxybenzaldehydes into lignins, *Org. Biomol. Chemistry*, 1: 158–281.

L

Lapornik B., Prosek M., Wondra A.G. 2005. Comparison of Extracts Prepared from Plant By-Products Using Different Solvents and Extraction Time. *Journal of Food Engineering*.71: 214-222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036>.

Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. *Food chemistry*, 85:231-237.

M

Macheix J.J. 1996. Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, *Acta Botanica Gallica*.

Macheix J.J., Fleuriest A et Jay-allemant C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ppur presses polytechniques. 192 p.

Maja Dent, Verica Dragovi-Uzelac, Marija Peni, Mladen Brn, Tomislav Bosiljkov and Branka Levaj. 2012. The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts. *Food Technol. Biotechnol.* 51, 1: 84–91.

Middleton E et al. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation heart disease, and cancer pharmacological review, vol 52,4:673-751.

Musa, K.H., Abdullah A., Jusoh, K. and Subramaniam V. 2011. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava *Psidium guajava* L. Effect of Extraction Techniques and Solvents. *Food Analytical Methods*, 4, 100-107.

N

Naczka M, Fereidoon Shahidi. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.

O

Olmstead R.G., Sweere J. A. Spangler R.E., Bohs L., et J. D. Palmer. 1999. Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. Pp. 111-137. En: *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*, M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, and J. P. Jessop (eds.). The Royal Botanic Gardens, Kew.

Olmstead, R.G. et Bohs, L. 2007. A Summary of molecular systematic research in Solanaceae: 1982-2006. Acta Hort. (ISHS) 745:255-268.

Oyaizu, M.1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japan J Nutr 44: 307-315.

P

Pinelo M., Manzocco L., Nuñez M.J.2004.Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. Agric Food Chemistry,52:1177–1180.

Popovici C, Saykova I., Tylkowski B.2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25-39.

Prigent S. 2005. Interactions of phenolic compounds with globular proteins and their effects on food-related functional properties.Ph.D. thesis, Wageningen University, The Netherlands. ISBN: 90-8504-267-4.

Proestos C, Lytoudi k., Mavromelanidou o.k., Zoumpoulakis P. et Sinanoglou V.J.2013. Antioxidant Capacity of Selected Plant Extracts and Their Essential Oils. Antioxidants , 2, 11-22.

Q

Quy Diem Do ., Angkawijaya A.E , Tran-Nguyen P.L ., Huynh L.H ., Soetaredjo F.E ., Ismadji S ., Ju Y.H .2014.Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Linnophila aromatic*. journal of food and drug anlysis 22 :296 – 302.

R

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A.1998. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Original Contribution, PII S0891-5849 00315-3.

Ribéreau-Gayon P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod, Paris.10-26.

Rice-Evans, C. A., Miller N. J., Bolwell G. P., Bramley P. M., Pridham, J. B.1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic. Res.* 22:375–383.

Robards, K. 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *J.Chromatogr.*, 1000, 657-691.

Roudsari M., chang P., peg R., Robert T.2009.antioxidant capacity of bioactives extracted from canolameal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction.food chemistry, 114, 7171-726.

S

Sabat G. 1957.contribution à l'étude des intoxications criminelles par les jusquiames. thèse de doctorat en médecine. Université d'Alger.90p.

Saha M. R, S. Hasan M. R. , R. Akter , M. M. Hossain, M. S. Alam, M. A. Alam , et M. E. H. Mazumder. 2008. *In vitro* free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of mimusops elengi linn. bangl. j. vet. med.6 (2): 197–202.

Satil F., Aslan M., Erdoğan E , Polat R.et Selvi S. 2015 (March). Comparative anatomical studies on some species of *hyoscyamus* l. (solanaceae) growing in turkey. *Bangladesh J. Bot.* 44(1): 37-43.

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

Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* 81: 200 – 208.

Sultana B, Farooq A et Ashraf M .2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14, 2167-2180.

T

Talbi H, A. Boumaza, K. *El-mostafa* , J. Talbi, A. Hilali.2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *JMESCN, Environ. Sci.* 6 (4) 1111-1117.

Tamari N., Mine A., Sako A., Tamagawa S., Tabira Y., Kitamura Y. 2014. Possible Application of the Medicinal Plant *Hyoscyamus albus* in Phytoremediation: Excess Copper Compensates for Iron Deficiency, Depending on the Light Conditions. *American Journal of Plant Sciences*. 3812-3822.

Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M., El-Elimat T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Journal of Food Chemistry*. 104: 1372–1378.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller Lamiaceae. *Food chemistry* 90:333-340.

Turkmen N, Sari F., Velioglu S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry* 93 (2005) 713–718.

Turkmen N., Sari F., Velioglu S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and FolineCiocalteu methods. *Journal Food Chemistry* .99:835-841.

Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F. et Polat G. 2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.

V

Vauzour D., Rodriguez-mateos A., Ccorona G., Oruna-concha M.J., Spencer J.P.E. 2010. Polyphenols and human health: prevention oldisease and mechanisms 01 action. *Nutrients*, 2, (11), 1106-1131.

Velioglu Y. S. Mazza, L G. Gao B.D. 1998. Antioxidants activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grains products. *Oomah J. Agric. Food Chem.* 46, 4113-4117.

Vermerris W. et Nicholson R. 2006. phenolic compound biochemistry. Springer. Netherlands.

Villano D., Fernandez-Pachón M.S., Moyá M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical *Talanta* 71:230–235.

W

Walters S, Judd, Christopher S, Campbell, Elizabeth A, Kellogg, Peter Stevens .2002. Botanique systématique : Une perspective systématique. de Boeck supérieur. France . 467 p.

X

Xu, B.J.; Chang, S.K. A. 2007. Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J. Food Sci.*, 72:159-166.

Y

Yang C., Chang F., Chang H., Wang M, Chang M. 2012. Investigation of the antioxidant activity of *Licium rum* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6,2:314-324.

Références numériques

Lieutaghi P. 28 mars 2016. « jusquiame », Encyclopédie Universel [en ligne], URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/jusquiame/>.

Tela botanica. 2011. *Hyoscyamus albus* L (eFlore, la flore électronique de Tela Botanica). www.tela-botanica.org (page consultée le 04.04.2016).

Tela botanica. 2011. *pulicaria odora* L (eFlore, la flore électronique de Tela Botanica). www.tela-botanica.org (page consultée le 04.04.2016).

Annexe I

Courbes d'étalonnages

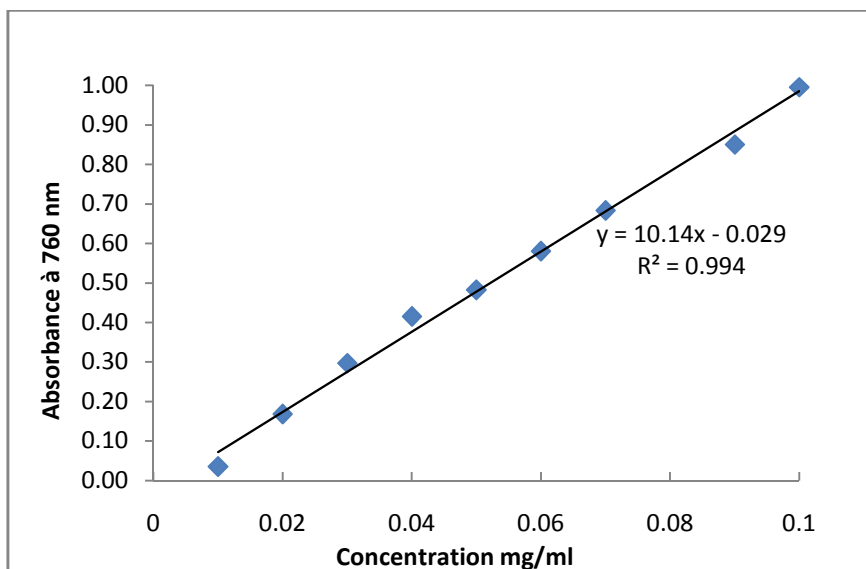


Figure N°1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

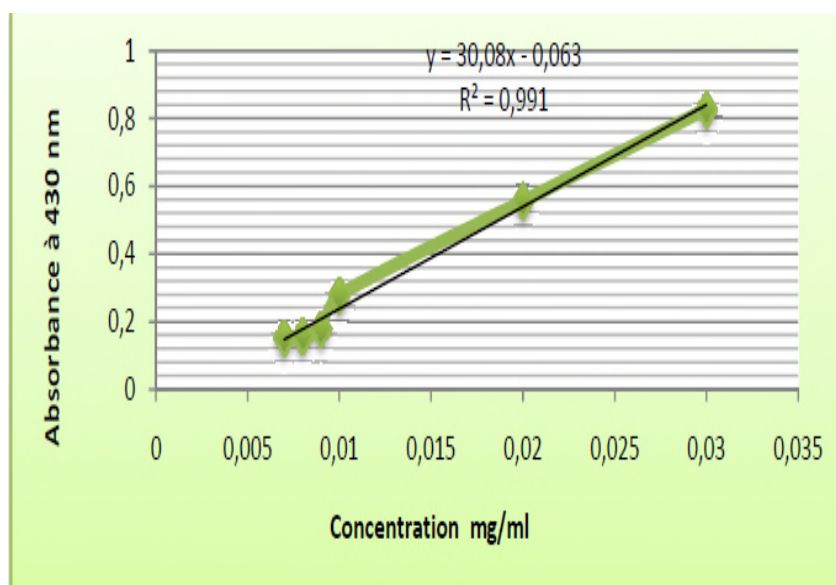


Figure N°2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

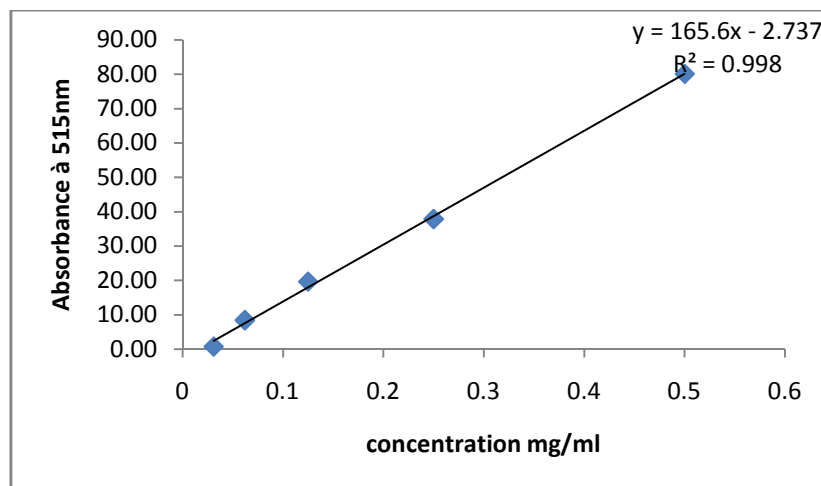


Figure N°3 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique du DPPH.

**L'IC₅₀ du radical DPPH des différents extraits des deux plantes *Hyoscyamus albus* L.
Pulicaria odora L**

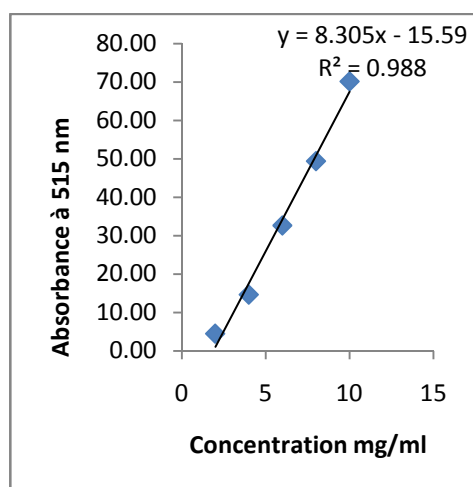


Figure N°4 : IC₅₀ du radical DPPH de l'extrait méthanolique

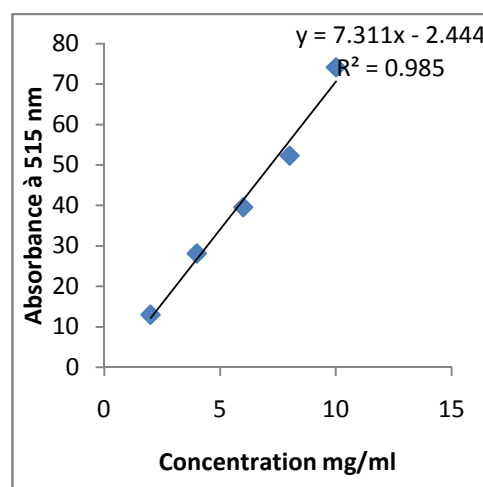


Figure N°5 : IC₅₀ du radical DPPH de l'extrait acétonique

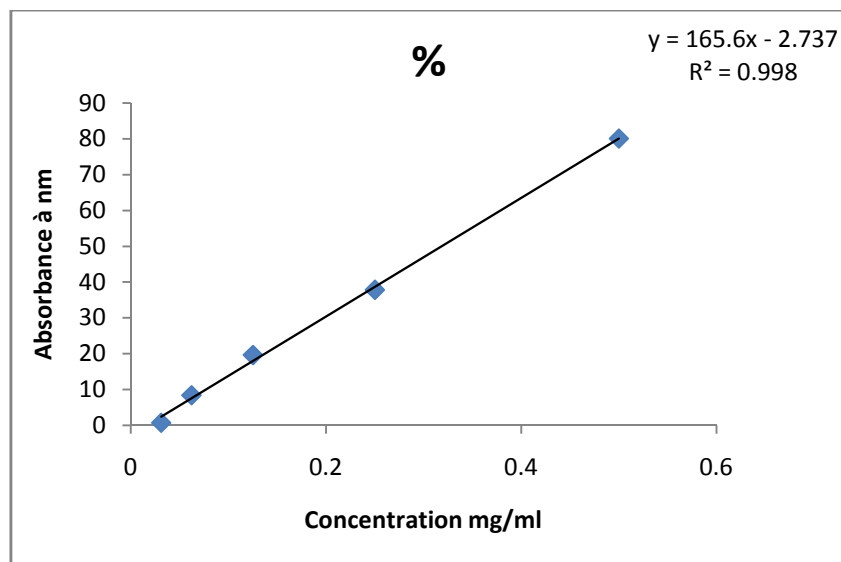


Figure N°6 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique ABTS

**Le pouvoir reducteur des différents extraits des deux plantes *Hyoscyamus albus* L.
Pulicaria odora L.**

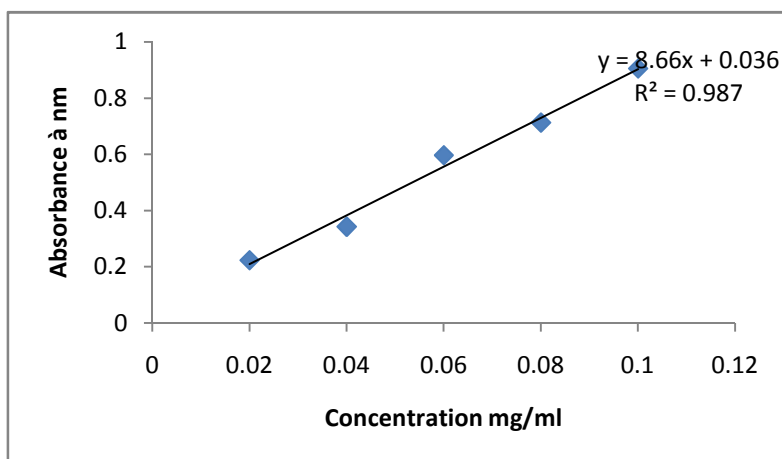


Figure N°9 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique du pouvoir réducteur

Annexe II

Matériels et Réactifs

- **Matériels**

- ✓ Bain mari
- ✓ Centrifugeuse
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ vortex

Dosage des polyphénols et flavonoïdes

- **réactifs**

- ✓ Folin ciocalteu
- ✓ Na_2CO_3
- ✓ AlCl_3
- ✓ Acide gallique
- ✓ Acide ascorbique

2. Activité antioxydante

- ✓ **DPPH**

Une solution de DPPH préparé avec du méthanol suivi de la mesure de l'absorbance à 517 nm, Ajusté l'absorbance à 0.8.

- ✓ **Pouvoir réducteur**

- Ferricyanure de potassium 2ml
- Acide trichloracétique 2ml
- Eau distillée 1ml
- Tampon phosphate (KH_2PO_4 , K_2HPO_4) 2ml
- FeCl_3 0.5ml

- ✓ **ABTS**

- 1 ml d'ABTS
- 25 ml d'eau
- 16.5 mg de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

Annexe III

Résultats globaux

Tableau I : Résultats des différents tests des extraits de *Pulicaria odora*

solvant	T°C	Temps	Polyphénol	Flavonoïdes	DPPH	Pouvoir réducteur
MeOH100%	30	2h	8,49±0,18	1,60±0,03	74,24±0,21	14,49±7,75
MeOH100%	30	4h	8,53±0,12	1,65±0,01	78,30±0,27	16,29±8,71
MeOH100%	30	6h	1,79±0,35	1,80±0,01	85,44±0,41	15,97±8,54
MeOH100%	50	2h	11,68±0,18	1,88±0,04	83,22±0,35	21,86±11,69
MeOH100%	50	4h	12,91±0,14	2,11±0,02	83,01±0,35	22,30±11,93
MeOH100%	50	6h	17,40±0,16	2,58±0,01	81,69±0,07	23,73±12,69
MeOH100%	70	2h	12,12±0,04	3,18±0,18	72,84±0,51	19,48±10,42
MeOH100%	70	4h	14,01±0,22	9,26±0,03	79,57±0,55	23,01±12,31
MeOH100%	70	6h	23,31±0,47	3,61±0,01	83,38±0,63	32,18±17,22
MeOH80%	30	2h	25,38±0,77	1,63±0,02	86,33±0,38	14,35±7,67
MeOH80%	30	4h	24,54±1,54	1,66±0,01	87,03±0,32	18,99±10,16
MeOH80%	30	6h	27,26±0,51	1,76±0,01	86,46±0,25	24,51±13,13
MeOH80%	50	2h	24,57±0,08	1,78±0,02	68,22±2,46	25,67±13,74
MeOH80%	50	4h	31,02±0,53	2,19±0,04	81,32±0,52	28,92±15,48
MeOH80%	50	6h	34,59±0,24	2,16±0,01	82,81±0,84	33,89±18,14
MeOH80%	70	2h	20,04±0,99	1,89±0,04	86,38±0,13	21,95±11,74
MeOH80%	70	4h	11,41±0,04	2,13±0,01	86,84±0,06	26,94±14,41
MeOH80%	70	6h	20,99±0,71	2,62±0,01	85,47±0,13	38,23±20,47
MeOH50%	30	2h	195,68±6,31	2,09±0,09	86,89±0,31	12,20±6,52
MeOH50%	30	4h	64,41±1,18	1,87±0,06	87,14±0,19	18,25±9,76
MeOH50%	30	6h	58,50±1,58	1,47±0,02	85,65±0,43	15,25±8,15
MeOH50%	50	2h	270,58±10,25	1,86±0,01	85,40±0,31	15,67±8,38
MeOH50%	50	4h	45,49±1,97	1,59±0,14	83,54±0,31	17,17±9,18
MeOH50%	50	6h	112,31±0,59	1,76±0,18	82,36±0,62	25,00±13,37
MeOH50%	70	2h	115,66±5,91	1,60±0,02	80,50±0,87	19,36±10,36
MeOH50%	70	4h	125,91±0,39	2,05±0,17	77,64±0,37	25,69±13,75
MeOH50%	70	6h	53,57±0,99	3,29±0,09	83,17±0,31	32,13±17,20
Ethan100%	30	2h	3,29±0,22	1,20±0,21	8,49±3,06	2,85±0,02
Ethan100%	30	4h	3,54±0,10	1,38±0,21	11,71±1,51	2,09±0,09
Ethan100%	30	6h	5,71±0,61	1,26±0,07	18,76±1,10	3,10±0,09
Ethan100%	50	2h	3,31±0,10	1,28±0,14	16,10±2,30	3,31±0,21
Ethan100%	50	4h	5,50±0,24	1,84±0,15	43,10±1,53	4,72±0,05
Ethan100%	50	6h	9,95±0,59	2,83±0,26	59,79±0,79	7,17±0,46
Ethan100%	70	2h	8,98±0,02	1,93±0,01	39,09±1,51	4,17±0,00
Ethan100%	70	4h	12,45±0,65	2,54±0,03	71,55±0,85	7,91±0,09
Ethan100%	70	6h	16,55±0,77	3,72±0,08	31,54±1,58	3,27±0,12
Ethan80%	30	2h	6,99±0,16	1,27±0,01	51,19±3,81	4,21±0,09
Ethan80%	30	4h	14,27±0,34	1,96±0,05	80,99±0,82	9,78±0,07
Ethan80%	30	6h	21,20±0,37	1,99±0,01	69,51±2,63	5,23±0,09

Ethan80%	50	2h	22,29±0,79	2,00±0,09	79,55±2,51	14,74±0,14
Ethan80%	50	4h	19,21±0,04	2,69±0,06	81,56±2,42	15,04±0,02
Ethan80%	50	6h	17,83±0,67	3,29±0,15	80,05±0,95	14,72±0,16
Ethan80%	70	2h	20,34±0,45	3,46±0,16	41,03±0,38	16,96±0,05
Ethan80%	70	4h	17,54±0,73	4,97±0,24	69,07±0,19	11,56±0,18
Ethan80%	70	6h	25,26±0,26	2,61±0,04	68,70±0,06	20,68±0,07
Ethan50%	30	2h	14,35±0,73	1,82±0,26	72,50±0,67	12,78±0,30
Ethan50%	30	4h	10,48±1,32	1,62±0,07	79,27±1,45	12,06±0,14
Ethan50%	30	6h	9,85±0,65	1,79±0,10	72,56±1,57	21,72±0,05
Ethan50%	50	2h	9,65±1,01	1,48±0,01	74,39±1,22	13,66±0,02
Ethan50%	50	4h	18,29±0,73	1,52±0,04	79,94±0,55	16,68±0,14
Ethan50%	50	6h	23,21±0,06	1,81±0,05	74,88±0,24	8,90±0,07
Ethan50%	70	2h	52,90±0,59	3,42±0,13	65,61±0,24	24,12±0,46
Ethan50%	70	4h	37,13±0,99	3,22±0,13	78,35±0,30	25,48±0,62
Ethan50%	70	6h	34,94±0,08	3,52±0,10	85,49±0,49	39,48±1,45
Acétone100%	30	2h	8,43±0,30	2,36±0,03	26,88±0,48	1,03±0,09
Acétone100%	30	4h	5,02±0,79	3,30±0,02	28,38±2,18	2,02±0,39
Acétone100%	30	6h	4,21±0,06	2,30±0,07	30,93±1,48	1,95±0,05
Acétone100%	50	2h	7,49±0,06	5,48±0,01	27,78±2,23	9,78±0,12
Acétone100%	50	4h	4,41±0,10	6,20±0,05	39,64±0,97	7,82±0,05
Acétone100%	50	6h	4,92±0,06	5,17±0,08	18,17±0,15	7,03±0,14
Acétone100%	70	2h	11,15±0,10	9,32±0,11	18,17±0,15	8,39±0,16
Acétone100%	70	4h	7,01±0,53	8,22±0,03	52,63±0,68	13,91±0,23
Acétone100%	70	6h	6,28±0,20	9,93±0,02	90,09±0,45	9,89±0,23
Acétone80%	30	2h	13,62±0,79	2,56±0,03	85,59±0,26	13,50±0,14
Acétone80%	30	4h	15,19±0,35	1,86±0,03	85,84±0,07	14,88±0,00
Acétone80%	30	6h	20,26±0,37	2,07±0,03	85,71±0,13	16,71±0,12
Acétone80%	50	2h	14,92±0,47	1,67±0,02	86,35±0,19	10,40±0,14
Acétone80%	50	4h	23,33±1,16	2,52±0,02	87,12±0,53	22,06±0,07
Acétone80%	50	6h	28,60±0,63	2,69±0,01	85,97±0,48	21,39±0,14
Acétone80%	70	2h	9,79±0,20	2,72±0,01	86,61±0,22	19,11±0,35
Acétone80%	70	4h	15,15±0,28	4,08±0,01	85,20±0,32	40,38±0,05
Acétone80%	70	6h	35,93±0,32	3,24±0,05	85,97±2,52	23,94±0,92
Acétone50%	30	2h	62,84±8,67	1,30±0,11	85,59±0,38	11,16±0,12
Acétone50%	30	4h	62,05±3,15	1,31±0,07	86,31±0,36	24,97±0,12
Acétone50%	30	6h	73,68±4,14	2,67±0,19	85,30±0,29	29,71±0,23
Acétone50%	50	2h	99,50±9,07	2,00±0,09	84,73±1,10	45,67±0,02
Acétone50%	50	4h	107,18±0,20	1,62±0,09	85,73±2,88	35,11±0,37
Acétone50%	50	6h	132,22±1,58	2,20±0,01	85,45±0,67	43,45±0,39
Acétone50%	70	2h	106,99±0,79	2,77±0,52	85,73±0,96	25,64±0,28
Acétone50%	70	4h	58,89±3,94	1,58±0,07	76,44±1,66	32,20±0,18
Acétone50%	70	6h	84,12±0,39	1,68±0,09	84,73±0,50	26,64±0,25

Tableau II : Résultats des différents tests des extraits d'*Hyoscyamus albus*.

solvant	T°C	Temps	polyphénol	Flavonoides	DPPH	Pouvoir réducteur
MeOH100%	30	2h	6,40±0,24	4,46±0,07	47,39±0,69	13,01±0,21
MeOH100%	30	4h	9,12±0,87	4,00±0,07	43,27±0,41	11,97±1,11
MeOH100%	30	6h	8,00±0,10	5,91±0,05	53,43±2,61	12,41±0,35
MeOH100%	50	2h	6,07±0,06	4,79±0,07	42,27±0,49	12,57±0,00
MeOH100%	50	4h	9,00±0,12	5,78±0,06	59,96±1,04	9,64±0,35
MeOH100%	50	6h	10,60±0,26	7,15±0,21	71,38±0,07	17,56±0,18
MeOH100%	70	2h	10,48±0,45	6,00±0,17	52,09±0,19	19,06±0,44
MeOH100%	70	4h	16,47±0,61	3,04±0,05	84,14±0,13	19,99±0,21
MeOH100%	70	6h	15,67±0,04	7,24±0,03	79,00±0,95	19,36±0,51
MeOH80%	30	2h	14,92±0,24	2,68±0,07	80,57±0,57	13,91±0,00
MeOH80%	30	4h	12,67±0,43	2,34±0,01	74,62±0,19	14,14±0,18
MeOH80%	30	6h	13,08±0,18	2,39±0,06	68,54±0,70	16,08±0,79
MeOH80%	50	2h	23,25±0,18	3,50±0,03	80,54±0,13	12,18±0,07
MeOH80%	50	4h	24,69±1,34	3,36±0,02	82,88±0,65	19,20±0,21
MeOH80%	50	6h	24,44±1,36	3,83±0,01	79,77±0,13	20,61±0,46
MeOH80%	70	2h	25,36±0,55	3,05±0,01	85,15±0,32	15,67±1,94
MeOH80%	70	4h	24,56±0,93	2,33±0,01	63,88±1,10	9,96±0,53
MeOH80%	70	6h	47,52±0,35	3,99±0,03	84,82±0,00	13,70±0,21
MeOH50%	30	2h	70,72±7,88	1,71±0,06	43,17±0,56	4,91±0,00
MeOH50%	30	4h	82,94±3,94	3,03±0,28	86,02±0,43	7,21±0,14
MeOH50%	30	6h	68,36±1,18	2,33±0,02	66,15±0,68	5,90±0,02
MeOH50%	50	2h	38,20±2,56	3,44±0,13	83,04±0,56	13,36±0,09
MeOH50%	50	4h	61,46±0,99	2,90±0,08	78,39±1,74	11,76±0,02
MeOH50%	50	6h	60,67±1,38	2,81±0,06	81,68±0,06	8,81±0,16
MeOH50%	70	2h	17,26±0,06	3,41±0,06	79,44±0,43	10,96±0,05
MeOH50%	70	4h	15,19±0,12	1,73±0,01	52,61±0,06	4,14±0,07
MeOH50%	70	6h	39,58±2,37	2,83±0,03	64,22±0,12	8,88±0,00
Ethan100%	30	2h	6,60±0,04	3,05±0,24	7,89±1,27	2,00±0,05
Ethan100%	30	4h	7,76±0,02	3,20±0,15	5,01±2,29	2,97±0,00
Ethan100%	30	6h	5,79±0,22	3,63±0,09	11,88±1,02	2,94±0,12
Ethan100%	50	2h	6,80±0,91	2,81±0,10	13,86±0,46	1,23±0,02
Ethan100%	50	4h	6,05±0,35	3,42±0,07	17,41±0,99	2,41±0,00
Ethan100%	50	6h	9,10±0,69	4,53±0,11	25,76±0,39	5,04±0,14
Ethan100%	70	2h	12,37±0,10	5,41±0,02	22,08±0,39	4,97±0,16
Ethan100%	70	4h	9,06±0,30	4,94±0,01	36,93±0,13	4,19±0,25
Ethan100%	70	6h	11,47±0,22	8,20±0,01	36,93±0,13	6,08±0,58
Ethan80%	30	2h	10,58±0,43	1,68±0,09	18,26±0,94	2,85±0,16
Ethan80%	30	4h	12,91±1,18	2,43±0,05	29,61±0,94	4,37±0,02
Ethan80%	30	6h	10,25±0,14	3,37±0,02	43,79±0,38	5,02±0,02
Ethan80%	50	2h	10,38±0,91	5,13±0,09	41,03±0,38	15,39±1,02
Ethan80%	50	4h	13,32±0,85	3,87±0,16	69,07±0,19	11,72±0,35
Ethan80%	50	6h	17,12±0,24	6,12±0,24	68,70±0,06	15,88±0,35

Ethan80%	70	2h	32,83±0,57	5,69±0,40	60,35±0,55	14,21±0,07
Ethan80%	70	4h	19,10±1,30	2,23±0,03	77,42±1,69	20,01±0,28
Ethan80%	70	6h	17,81±0,02	4,93±0,05	73,65±1,25	10,59±0,23
Ethan50%	30	2h	7,23±0,04	1,98±0,03	49,39±0,95	7,08±0,14
Ethan50%	30	4h	8,10±0,35	2,09±0,01	60,61±2,12	6,66±0,09
Ethan50%	30	6h	4,84±0,06	1,78±0,05	46,95±0,85	4,79±0,07
Ethan50%	50	2h	20,42±0,30	4,22±0,11	75,12±1,57	6,15±0,14
Ethan50%	50	4h	11,17±0,04	3,17±0,05	64,57±0,30	7,75±0,30
Ethan50%	50	6h	25,82±1,04	3,98±0,10	75,12±0,37	13,75±0,07
Ethan50%	70	2h	5,32±0,18	3,30±0,19	81,83±0,12	14,84±0,14
Ethan50%	70	4h	34,63±0,63	3,56±0,09	79,76±0,24	11,58±0,07
Ethan50%	70	6h	5,38±0,20	3,24±0,49	79,88±0,87	10,38±0,44
Acétone100%	30	2h	4,75±0,83	4,91±0,15	28,53±1,28	0,41±0,03
Acétone100%	30	4h	4,15±0,20	9,28±0,05	27,63±0,30	0,98±0,01
Acétone100%	30	6h	4,65±0,53	9,08±0,12	30,18±0,75	1,10±0,00
Acétone100%	50	2h	3,76±0,08	8,94±0,01	13,21±1,00	1,54±0,01
Acétone100%	50	4h	4,92±0,14	7,26±0,14	30,41±0,53	1,04±0,00
Acétone100%	50	6h	5,24±0,53	6,57±0,25	39,56±0,38	1,88±0,01
Acétone100%	70	2h	5,36±0,49	10,29±0,23	48,05±0,30	2,28±0,08
Acétone100%	70	4h	6,01±0,32	11,72±0,12	36,49±0,45	2,74±0,01
Acétone100%	70	6h	7,23±0,87	12,29±0,01	45,50±0,15	2,45±0,03
Acétone80%	30	2h	11,80±0,08	4,40±0,07	77,81±0,64	1,52±0,05
Acétone80%	30	4h	23,45±0,65	5,03±0,01	77,61±0,45	1,59±0,03
Acétone80%	30	6h	13,83±0,06	6,58±0,06	82,53±0,19	2,14±0,01
Acétone80%	50	2h	20,34±0,06	5,43±0,03	80,99±1,07	1,81±0,00
Acétone80%	50	4h	15,80±0,49	6,60±0,02	80,61±1,42	2,03±0,01
Acétone80%	50	6h	20,97±1,20	6,76±0,01	83,55±0,19	1,95±0,02
Acétone80%	70	2h	16,49±0,55	6,10±0,01	82,33±0,32	2,32±0,00
Acétone80%	70	4h	21,22±0,47	7,47±0,01	83,42±0,45	2,54±0,03
Acétone80%	70	6h	32,64±1,24	3,85±0,03	82,27±1,02	4,99±0,01
Acétone50%	30	2h	54,76±4,14	1,96±0,03	77,09±2,83	2,10±0,00
Acétone50%	30	4h	100,29±7,88	2,88±0,09	82,42±3,76	2,45±0,04
Acétone50%	30	6h	71,90±1,18	2,61±0,03	83,14±0,17	2,14±0,14
Acétone50%	50	2h	148,58±5,72	4,45±0,11	83,86±1,50	4,91±0,09
Acétone50%	50	4h	91,81±14,78	4,95±0,05	74,71±1,37	3,69±0,03
Acétone50%	50	6h	101,86±5,91	5,47±0,31	83,86±0,72	2,84±0,04
Acétone50%	70	2h	97,72±4,53	5,52±0,02	82,28±1,37	3,05±0,05
Acétone50%	70	4h	33,67±1,18	4,03±0,09	83,86±2,60	1,33±0,00
Acétone50%	70	6h	91,61±0,79	5,58±0,33	80,55±0,52	6,02±0,10

Partie
Bibliographique

Introduction

Chapitre I

Composés phénoliques et activité antioxydante

Chapitre II

Généralités sur les deux plantes

Partie

Pratique

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Chapitre IV

Résultats et discussion

Conclusion

Références

bibliographiques

Annexes

Résumé

Dans ce travail on a procédé à l'étude de l'effet de certains paramètres d'extraction des composés phénoliques à savoir le solvant à différentes concentrations (50% , 80% , 100%), temps (2h, 4h, 6h) et température (30°C, 50°C, 70°C) de la partie aérienne des deux plantes médicinales *Hyoscyamus albus* (solanacées) et *Pulicaria odora* (astéracées) très répandues dans le bassin méditerranéen. Les extraits de *Pulicaria odora* ont révélé que le méthanol 50%/50°C/2h a donné la meilleure teneur en polyphénols avec une valeur de 270,58±10,25 mg EAG/g de poudre, alors que la teneur en flavonoïdes des extraits de cette plante est attribuée à l'acétone 100% /70°C/6h avec une concentration de 9,93±0,02 mg EQ/g de poudre, tandis que les extraits d'*Hyoscyamus albus* ont démontré que l'acétone 50% /50°C/2h et 100%, 70°C/6h est le meilleur solvant d'extraction des polyphénols et les flavonoïdes avec des valeurs 148,58 mg EAG/g de poudre±5,72 et 12.29±0,01 mg EQ/g de poudrerectivement.

L'activité antioxydante des extraits a été testée par les méthodes suivantes : DPPH, pouvoir réducteur et ABTS. Les résultats des tests du DPPH et du pouvoir réducteur pour *Pulicaria odora*, on a constaté que l'acétone 100%/70°C/6h et le 50%/50°C/2h ont donné une meilleure activité anti-radicalaire et réductrice 90.09%±0,45, 45.67±0,02 mg EAA/g de poudrerectivement. Pour *Hyoscyamus albus* c'est le méthanol 50%/30°C/4h qui a donné un meilleur pourcentage d'inhibition 85.59% ±0,43 et un pouvoir réducteur important est noté pour le méthanol 80%/50°C/6h avec une concentration de 20.61±0,46 mg EAA /g de poudre. Pour l'ABTS le méthanol 50% /50°C/ 2h et l'acétone 50°C/50%/2h ont donné presque les mêmes valeurs 85 % pour *Pulicaria odora* et 84% pour *Hyoscyamus albus*.

Mots-clés: *Hyoscyamus albus*, *Pulicaria odora*, polyphénols, activité antioxydante, pouvoir réducteur, DPPH.

Abstract

The aim of this work is to study the effect of extraction solvent at different concentrations (50% , 80% , 100%), time (2h, 4h, 6h) et temperature (30°C, 50°C, 70°C) of the aerial parts of *Hyoscyamus albus* (solanaceae) and *Pulicaria odora* (Asteraceae). The results of *Pulicaria odora* showed that the maximum total phenolic amounts obtained were 270, 58±10,25 mg GAE/ g DWwith methanol at 50%/50°C/2h , total flavonoids obtained were 9,93±0,02 mg QE/g DW with acetone at100% /70°C/6h. whereas for *Hyoscyamus albus*, the acetone extract at 50% /50°C/2h and 100%, 70°C/6h records the highest content of total phenolics 148,58 ±5,72 mg GAE/g DWand flavonoids 12.29±0,01 mg QE /g DW.

Antioxidant activity was evaluated using three different methods: DPPH, reducing power, ABTS. The percentage of inhibition and reducing power for *Pulicaria odora* were 90.09%±0,45 and 45.67±0,02 mg AAE/g DW for acetone 100%/70°C/6h and 50%/50°C/2h respectively. Whereas for *Hyoscyamus albus*, the percentage of inhibition was 85.59%±0,43 for methanol at 50%/30°C/4h and reducing power 20.61±0,46 mg AAE/g DW for methanol at 80%/50°C/6h. For the ABTS methanol 50%/50C/2h and acetone 50C/50%/2h almost gave same values 85 % for *Pulicaria odora* and 84 % for *Hyoscyamus albus*.

Key words: *Pulicaria odora*, *Hyoscyamus albus* , phenolic coumpounds, DPPH, reducing power, ABTS.