

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Physico-chimique**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Option : Biochimie Appliquée**



**Réf :.....**

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Etude de l'activité antioxydante des  
composés phénoliques de *Fumaria  
officinalis***

Présenté par :

**M<sup>lle</sup> Betroune Lynda & M<sup>lle</sup> Boukir Chafiaa**

**Soutenu le : 19 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mr Hammoum. M	MAA	Président
Mme Khamtache. S	MAA	Promotrice
Mme Cheraft-Bahloul. N	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**

# Dédicaces

*Je dédie ce mémoire*

*A ma Mère Fatima*

*A la mémoire de mon Père M<sup>r</sup> Arxeki*

*A mes sœurs Saloua , Katia Tacus et Ryma*

*A mon frère Makhlouf*

*A mon cousin Idris*

*Et à mes amis Nora, Wassima et Karima*

*Chafiaa*

## Dédicaces

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents Boukhalifa et Fatima sans eux je ne suis pas pu être ce que je suis en reconnaissance de leurs efforts leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.*

*A mes chers frères Saïde et sa femme Kahina, Fakhir, Kamel, Sofiane, Nabil, Loucif.*

*A mes chères sœurs Lamia, Nabila, Sabrina, Mounia et leurs maries Bourmane, Hamid et Lyes.*

*Sans oublier les anges Kamilya et Lina.*

*A ma belle grand-mère Fuina et mes belles tantes pour leurs gentilleses et leurs soutiens. A tous ceux qui m'aiment.*

*Lynda*

# Remerciements

*En premier lieu, nous remercions notre Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la foi qui nous a guidés jusqu'à la réalisation de ce projet.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et toute notre gratitude à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promotrice Mme Zhamtache S qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction.*

*Nous remercions les membres du jury : Mr Hammoum M et Mme Pherast N. d'avoir accepté de juger notre modeste travail.*

*Nous remercions également Mlle Tabti Naïma ; la technicienne du laboratoire de BRC et Mlle Mezahem Cassadit pour leur aide précieuse.*

*Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction**..... 1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

I	Synthèse bibliographique.....	2
I-1	<i>Fumaria officinalis</i> .....	2
I-1-1	Description botanique.....	2
I-1-2	Distribution géographique et habitat.....	2
I-1-3	Nomenclature de la plante.....	3
I-1-4	Classification botanique.....	3
I-1-4-1	Classification classique.....	3
I-1-4-2	Classification phylogénique.....	4
I-1-5	Composition chimique.....	4
I-1-5-1	Alcaloïdes.....	4
I-1-5-2	Flavonoïdes et acides phénols.....	5
I-1-5-3	Acides organiques et autres constituants.....	5
I-1-6	Effets pharmacologiques.....	5
I-1-7	Utilisations traditionnelles.....	6
I-2	Composés phénoliques.....	6
I-2-1	Définition.....	6
I-2-2	Biosynthèse.....	6
I-2-2-1	La voie d'acide shikimique.....	6
I-2-2-2	La voie d'acide mévalonique.....	6
I-2-2-3	La voie de phénylpropanoïde.....	7
I-2-3	Structure et Classification.....	7
I-2-3-1	Acides phénoliques.....	7

I-2-3-2	Flavonoïdes .....	7
I-2-3-3	Tanins.....	7
I-2-3-4	Stilbènes.....	8
I-2-3-5	Lignanes.....	8
I-2-4	Propriétés physico-chimiques.....	8
I-2-5	Rôle biologique.....	8
I-2-6	Effets pharmacologiques.....	8
I-3	Stress oxydant .....	9
I-3-1	Définition.....	9
I-3-2	Radicaux libres.....	9
I-3-2-1	Définition .....	9
I-3-2-2	Nature des radicaux libres.....	10
I-3-2-3	Génération des radicaux libres.....	10
I-3-2-4	Rôles physiologiques .....	11
I-3-2-5	Rôles pathologiques .....	11
I-3-3	Antioxydants.....	13
I-3-3-1	Définition des antioxydants.....	13
I-3-3-2	Actions des antioxydants.....	13
I-3-3-3	Classification des antioxydants.....	13
I-3-4	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	15

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II	Matériel et méthodes.....	17
II-1	Matériel.....	17
II-1-1	Matériel végétal.....	17
II-2	Méthodes.....	17
II-2-1	Préparation du matériel végétal.....	17
II-2-1-1	Récolte.....	17
II-2-1-2	Identification.....	18
II-2-1-3	Séchage.....	18
II-2-1-4	Broyage.....	18

II-2-1-5	Tamissage.....	18
II-2-2	Extraction des composés phénoliques.....	19
II-2-3	Dosage des composés phénoliques .....	19
II-2-3-1	Dosage des polyphénols totaux.....	19
II-2-3-2	Dosage des flavonoïdes.....	20
II-2-3-3	Dosage des tannins condensés.....	20
II-2-4	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits <i>in vitro</i> .....	21
II-2-4-1	Capacité antioxydante totale.....	21
II-2-4-2	Capacité réductrice du fer.....	21
II-2-4-3	Activité scavenger du radical DPPH.....	22
II-2-4-4	Activité scavenger du radical ABTS.....	23
II-2-4-5	Test de blanchissement de $\beta$ -carotène.....	24
II-2-5	Analyse statistique.....	25

### Chapitre III : Résultats et discussion

III	Résultats et discussion.....	26
III-1	Taux d'humidité.....	26
III-2	Teneur en composés phénoliques.....	26
III-2-1	Teneur en polyphénols totaux.....	26
III-2-2	Teneur en flavonoïdes.....	27
III-2-3	Teneur en tannins condensées.....	29
III-3	Activité antioxydante des extraits <i>in vitro</i> .....	30
III-3-1	Capacité antioxydante totale.....	30
III-3-2	Capacité réductrice du fer.....	31
III-3-3	Activité scavenger du radical DPPH.....	33
III-3-4	Activité scavenger du radical ABTS.....	36
III-3-5	Test de blanchissement de $\beta$ - carotène.....	38
III-4	Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques de <i>Fumaria officinalis</i> .....	40
	<b>Conclusion</b> .....	42

**Références bibliographique** ..... **43**

**Annexes**

**Glossaire**

## **Liste des abréviations**

<b>4HR :</b>	4-Hexyl Resorcinol
<b>ABTS :</b>	2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique
<b>ADN :</b>	Acide Désoxyribo Nucléique
<b>BHA :</b>	Butyl Hydroxyl Anisole
<b>CAT :</b>	Catalase
<b>DPPH :</b>	1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl
<b>EAG :</b>	Equivalent d'Acide Gallique
<b>EC :</b>	Equivalent de Cathichine
<b>EOA :</b>	Espèces Oxygénées Activées
<b>EQ :</b>	Equivalent de Quercétine
<b>ERA :</b>	Espèces réactives d'Azote
<b>ERO :</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène ou oxygénées
<b>ES :</b>	Extrait Sec
<b>FRAP :</b>	Ferric Reducing Antioxidant Potential
<b>GPX :</b>	Glutathione peroxidase
<b>GSH :</b>	Glutathion réduit
<b>HO<sub>2</sub><sup>•</sup> :</b>	Radical hydro peroxydyle
<b>IC50 :</b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>LDL :</b>	Low density lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité
<b>LOO<sup>•</sup> :</b>	Radical peroxyde d'hydrogène
<b>LOOH :</b>	Peroxyde lipidique
<b>LP :</b>	Peroxydation lipidique
<b>NO<sup>•</sup> :</b>	Oxyde nitrique
<b>NO<sub>2</sub><sup>•</sup> :</b>	Dioxyde de nitrogène
<b>NOS :</b>	Nitric oxide synthase

<b><math>^1\text{O}_2</math></b> :	Oxygène singlet
<b><math>\text{O}_2^{\cdot-}</math></b> :	Radical super oxyde
<b>OG</b> :	Gallate d'Octyle
<b>OH<math>\cdot</math></b> :	Radical hydroxyle
<b>PG</b> :	Gallate de Propyle
<b>PR</b> :	Pouvoir réducteur
<b>RO<math>\cdot</math></b> :	Radical alkoxyde
<b>RO<math>_2^{\cdot}</math></b> :	Radical peroxyde
<b>ROO<math>\cdot</math></b> :	Radical peroxyde
<b>SOD</b> :	Super Oxyde Dismutase
<b>TAC</b> :	Totale Antioxidant Capacity
<b>TBHQ</b> :	Tertiary Butyl Hydro Quinone
<b>THBP</b> :	Tri Hydroxy Butyro Phenone
<b>UV</b> :	Ultra Violet

**Liste des tableaux**

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification botanique de <i>Fumaria officinalis</i>	4
<b>II</b>	Classification phylogénique de <i>Fumaria officinalis</i>	4
<b>III</b>	Quelques effets pharmacologiques de <i>Fumaria officinalis</i>	5
<b>IV</b>	Différents paramètres pour le calcul du taux d'humidité de la partie aérienne de <i>Fumaria officinalis</i>	26
<b>V</b>	Matrice de corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en polyphénols des extraits de <i>Fumaria officinalis</i>	40

## Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
<b>01</b>	Photographe de la plante de <i>Fumaria officinalis</i> complète	2
<b>02</b>	Photographes des fleurs et fruits de <i>Fumaria officinalis</i>	3
<b>03</b>	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	9
<b>04</b>	Action des antioxydants au cours du métabolisme des ERO	14
<b>05</b>	Région de la récolte de <i>Fumaria officinalis</i>	17
<b>06</b>	Photographes de la plante sèche et de la poudre de <i>Fumaria officinalis</i>	18
<b>07</b>	Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i>	27
<b>08</b>	Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i>	28
<b>09</b>	Histogramme représentant la teneur en tannins condensés des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i>	29
<b>10</b>	Capacité antioxydante totale des différents extraits phénoliques de <i>Fumaria officinalis</i> à différentes concentrations	30
<b>11</b>	Capacité antioxydante totale du standard testé (Acide ascorbique) à différentes concentrations	31
<b>12</b>	Pouvoir réducteur des différents extraits phénolique de <i>Fumaria officinalis</i> à différentes concentrations	32
<b>13</b>	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique à différentes concentrations	33
<b>14</b>	Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH des extraits de <i>Fumaria officinalis</i> à différentes concentrations.	33
<b>15</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'acide ascorbique à différentes concentrations.	34
<b>16</b>	Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i> et de l'acide ascorbique pour l'activité scavenger de DPPH	35
<b>17</b>	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS des extraits de <i>Fumaria officinalis</i> à différentes concentrations.	36
<b>18</b>	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS de l'acide ascorbique à différentes concentrations.	37
<b>19</b>	Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i> et de l'acide ascorbique pour l'activité scavenger d'ABTS.	37
<b>20</b>	Pourcentages d'inhibition des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i> et de la BHA à différents concentrations pour le test de blanchissement de $\beta$ -carotène	38
<b>21</b>	Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de <i>Fumaria officinalis</i> et de la BHA pour le test de blanchissement de $\beta$ -carotène.	39

# INTRODUCTION

## Introduction

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme (Zino *et al.*, 1997).

A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les ERO au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides (Coyle *et al.*, 1993; Halliwell, 1997).

Actuellement, beaucoup d'attention est accordée à l'utilisation des antioxydants d'origine végétal comme les polyphénols et la vitamine C pour remplacer celles de synthèse et pour renforcer ceux endogènes (Taviano *et al.*, 2013).

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et coumarines) (Khadhri, 2013).

*Fumaria officinalis* est une plante herbacée annuelle qui appartient à la famille des *Fumariaceae* ; parmi les plantes médicinales employée dans la médecine traditionnelle, pour le traitement de l'hypertension, employée comme diurétique et laxative...etc (Karim, 1880 ; Ghani, 1921).

L'objectif de cette étude est d'estimer la teneur en composés phénoliques de la plante médicinale, *Fumaria officinalis*, récoltée dans la région d'Akbou à Bejaïa, par dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés, comme elle vise à l'évaluation de leur activité antioxydante.

SYNTHESE  
**SYNTHESE**

BIBLIOGRAPHIQUE  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I- Synthèse bibliographique

### I-1- *Fumaria officinalis*

#### I-1-1- Description botanique

*Fumaria officinalis* est une plante herbacée, annuelle ou bisannuelle, dressée ou diffuse, rarement grimpante, elle a une tige d'environ 30 à 70 cm, fortement rameuse avec des feuilles alternes, divisées, vertes ou glauques, avec segments étroits (Goetz *et al.*, 2009).



**Figure 01** : Photographie originale de la plante de *Fumaria officinalis* complète.

Elle a des fleurs purpurines ou rosées, irrégulières, disposées en grappes sur la partie terminale de la tige et un fruit se forme d'une silicule globuleuse indéhiscente renfermant une graine tronquée marginée au sommet. Cette plante, polymorphe, contient un latex et présente un gout amer (Goetz *et al.*, 2009).



**Figure 02** : Photographes des fleurs et fruits de *Fumaria officinalis*.

### **I-1-2- Distribution géographique et habitat**

*Fumaria officinalis* est ré pondue en Europe, en Afrique du nord et en Asie. Elle est fréquente au bord des chemins et des terres non cultivées, le long des vieux murs, les champs, les jardins et dans des basses et moyennes montagnes (Beloued, 2009 ; Debuigne et Couplan, 2009).

### **I-1-3- Nomenclature de la plante**

**Nom botanique** : *Fumaria officinalis*.

**Noms français** : Fumeterre, Herbe de la veuve, Pied de géline, Tarabustelle (Leclerc, 1983).

**Noms vernaculaires** : Thidjoujar g-yesghi, Essibanna, El-issouf, Chikhe-el kanoun (Dellile, 2007).

### **I-1-4- Classification botanique**

#### **I-1-4-1- Classification classique**

*Fumaria officinalis* appartient à la famille des *Fumariaceae* selon la classification classique.

**Tableau I:** Classification botanique de *Fumaria officinalis* (Goetz *et al.*, 2009).

Règne	Plantae (plantes)
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Super division	Spermatophyta (plants à graines)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (dicotylédones)
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Papaverales
Famille	<i>Fumariaceae</i>
Genre	<i>Fumaria</i>
Espèce	<i>Fumaria officinalis</i>

#### I-1-4-2- Classification phylogénique

Certains botanistes incluent les plantes des Fumariacées dans celles des *Papaveraceae*.

**Tableau II :** Classification phylogénique de *Fumaria officinalis* (Salinas *et al.*, 2003).

Ordre	Ranunculales
Famille	<i>Papaveraceae</i>
Genre	<i>Fumaria</i>
Espèce	<i>Fumaria officinalis</i>

#### I-1-5- Composition chimique

##### I-1-5-1- Alcaloïdes

Plusieurs types d'alcaloïdes ont été isolés à partir de cette espèce ;

- Protopines : (le type quantitativement prédominant), comme protopine (fumarine) et cryptopine ;
- Protoberberines : aurotensine, stylopine, N-méthylsinactine et autres ;
- Spirobenzylisoquinolines : fumaritine, fumaricine, fumariline et autres ;
- Benzophénanthridines : sanguinarine et corydamine (traces) ;
- Indenobenzazépines : fumaritrididine et fumaritrine ;
- Alcaloïdes isoquinoléiques : chelléritrine, hydrastine, bicuculline, chelidonine, allocryptopine, stylopine et sanguinarine (Păltinean *et al.*, 2016).

### I-1-5-2- Flavonoïdes et acides phénols

Les flavonoïdes sont principalement des glucosides de quercétine comme l'isoquercitrine, la quercétine-3,7-diglucoside-3-arabinoglucoside Cynarin, Isovitexine (Torck *et al.*, 1971).

Les acides phénoliques comportent des acides : caféique, chlorogénique, fumarique, cinnamique et ester maliques (Goetz *et al.*, 2009).

### I-1-5-3- Acides organiques et autres constituants

Ils comportent des acides : malique, éritique, succinique, lactique et glycolique, des principes amers, des mucilages, des sels de résine et de potassium (Goets *et al.*, 2009).

### I-1-6- Effets pharmacologiques

Quelques effets pharmacologiques de cette plante sont présentés dans le tableau suivant ;

**Tableau III** : Quelques effets pharmacologiques de *Fumaria officinalis*.

Système	Effet	Référence
Tout	Anti-malaria	(Lombardi, 1951)
Digestif	Amphochloreitique	(Boucard et Laubenheimer ., 1966 ; Reynier <i>et al.</i> , 1977)
Nerveux Neurovégétatif	Antihistaminique, antiasthmatique et anti sérotonine. Effet dépresseur du système nerveux Excitateur et déclencheur de convulsions	(Goetz <i>et al.</i> , 2009)
Hépatobiliaire	Spasmolytique des muscles lisses myorelaxant du sphincter d'Oddi	(Goetz <i>et al.</i> , 2009)

Cardiovasculaire	Cardiotrope (la protopine exerce des actions inotrope et chronotrope négatives sur le cœur de lapin) : Cardiodépressive	(Goetz <i>et al.</i> , 2009)
La peau	Agent précieux dans les éruptions cutanées tel que l'eczéma et le psoriasis, dans la gale et la syphilis	(Mir Heidari, 1993)

### I-1-7- Utilisations traditionnelles

*Fumaria officinalis* a été utilisé dans la médecine traditionnelle comme un traitement des conjonctivites et d'hypertension, elle est employée comme diurétique, laxative digestive tonique et comme un vermifuge. Cependant, l'utilisation principale de cette plante est la régulation du dysfonctionnement de la sécrétion biliaire et dans les traitements des éruptions cutanée et d'autres maladies de la peau en la prenant comme infusion (Karim, 1880 ; Ghani, 1921; Goetz *et al.*, 2009).

## I-2- Composés phénoliques

### I-2-1- Définition

Les polyphénols sont des constituants naturels présents dans les aliments d'origine végétale caractérisés par une structure en polyphénols, ce qui signifie qu'ils ont plusieurs groupes hydroxyles sur deux cycle aromatiques à six carbones ou plus (D'Archivio *et al.*, 2007 ; Tangney *et al.*, 2013).

### I-2-2- Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés principalement par ces voies :

#### I-2-2-1- La voie d'acide shikimique

Cette voie donne naissance aux composés aromatiques, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés comme les acides benzoïques à partir de l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate qui sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables, les flavonoïdes et tannins condensés (Dewick, 1995; Knaggs, 2003).

#### I-2-2-2- La voie d'acide mévalonique

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate », qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA obtenue par la glycolyse et la  $\beta$ -oxydation (Richter, 1993).

### **I-2-2-3- La voie de phénylpropanoïde**

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des acides phénoliques simples, les coumarines, les flavonoïdes, les acide salicyliques et les précurseurs de lignine (Hoffmann *et al.*, 2004).

### **I-2-3- Structure et classification**

Les polyphénols sont les métabolites secondaires les plus abondantes des plantes, avec plus de huit milles structures phénoliques connues. La diversité de leurs structures est le résultat de la variation du modèle d'hydroxylation, de la stéréochimie aux trois centres chiraux, ainsi que l'emplacement et le type de liaison interflavane, ainsi que le degré de la méthylation, la glycosylation et la galloylation (Dai et Mumper, 2010).

Les polyphénols peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et sur la base d'éléments structuraux qui lient ces cycles entre eux. Les principales classes comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les stilbènes et les Lignanes (Spencer *et al.*, 2008).

#### **I-2-3-1-Acides phénoliques**

Les acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) sont des dérivés des acides benzoïques et cinnamiques (Bruneton, 1993).

#### **I-2-3-2- Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation. Ils ont le squelette structurel (C6-C3-C6) général dans lequel les deux unités C6 (cycles A et B) sont de nature phénolique. En raison du profil d'hydroxylation et des variations du cycle C, les flavonoïdes peuvent être divisés en différents six sous-groupes tels que: les flavones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones et anthocyanines (Lee *et al.*, 1994 ; Dai et Mumper, 2010 ; Tsao, 2010).

#### **I-2-3-3-Tannins**

Les tannins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines, alcaloïdes, acides nucléiques et les glucides, ce qui est due à leur teneur en groupements hydroxyles. Ils sont très répandus dans le règne végétal, particulièrement dans certaines familles comme les rosacée, les conifères et les fagacée (Kamra *et al.*, 2006).

En général, ils sont subdivisés en deux groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés, qui sont distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons (Rira, 2006).

#### **I-2-3-4- Stilbènes**

Les stilbènes (C6-C2-C6) caractérisés par une structure ayant un noyau 1,2-diphényléthylène avec des groupements hydroxyles substitués sur les cycles aromatiques et existent sous forme de monomères ou d'oligomères. Le composé le plus connu est le trans-resvératrol, possédant un squelette trihydroxystilbène (Han *et al.*, 2007).

#### **I-2-3-5- Lignanes**

Les lignanes (C6-C3)<sup>2</sup> sont constitués de deux unités de phénylpropane (C6-C3), qui sont liés par leur carbone huit. Ils sont présents dans la plante sous forme de glucosides (El Gharras, 2009).

#### **I-2-4- Propriétés physico-chimiques**

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques sont solubilisés par le bicarbonate et les glycosides de ces composés sont solubles dans l'eau. Les dérivés d'acides cinnamiques tendent à former des isomères dans les solutions aqueuses. Tous les composés phénoliques sont instables, ils peuvent tous être oxydés, notamment dans les conditions alcalines (Bruneton, 1999).

#### **I-2-5- Rôle biologique**

Les plantes contiennent une grande variété de dérivés phénoliques. Ces substances sont essentielles pour la croissance, la pigmentation, la reproduction des plantes et la résistance aux pathogènes et les prédateurs (Butler, 1982 ; Bhooshan Pandey *et al.*, 2009).

Les composés phénoliques fonctionnent comme des antibiotiques, des pesticides naturels, des substances pour établir une symbiose avec des rhizobiums, attractifs pour les pollinisateurs, agents de protection contre la lumière ultraviolette (UV), matériaux isolants pour fabriquer des parois cellulaires imperméables au gaz et à l'eau et comme matériaux de structure pour donner une stabilité aux plantes (Shahidi *et al.*, 2006).

#### **II-2-6- Effets pharmacologiques**

Les polyphénols ont de puissantes propriétés antioxydantes et des effets dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydant (Manach *et al.*, 2004).

Les polyphénols ont d'autres activités biologiques, en plus des propriétés anti oxydantes, ils interviennent dans la prévention ou le traitement des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et du cancer. De plus, il a été constaté que les polyphénols modulaient l'activité d'une gamme d'enzymes (Cole *et al.*, 2005; Rasmussen *et al.*, 2005).

### I-3- Stress oxydant

#### I-3-1- Définition

Le stress oxydant désigne une situation métabolique durant laquelle il y a formation d'une quantité excessive de radicaux libres. Les réactions en chaîne provoquées par ces molécules affaiblissent tout l'organisme. Cela ne fait que renforcer l'action du stress oxydant et les radicaux libres (Rösen, 2004).

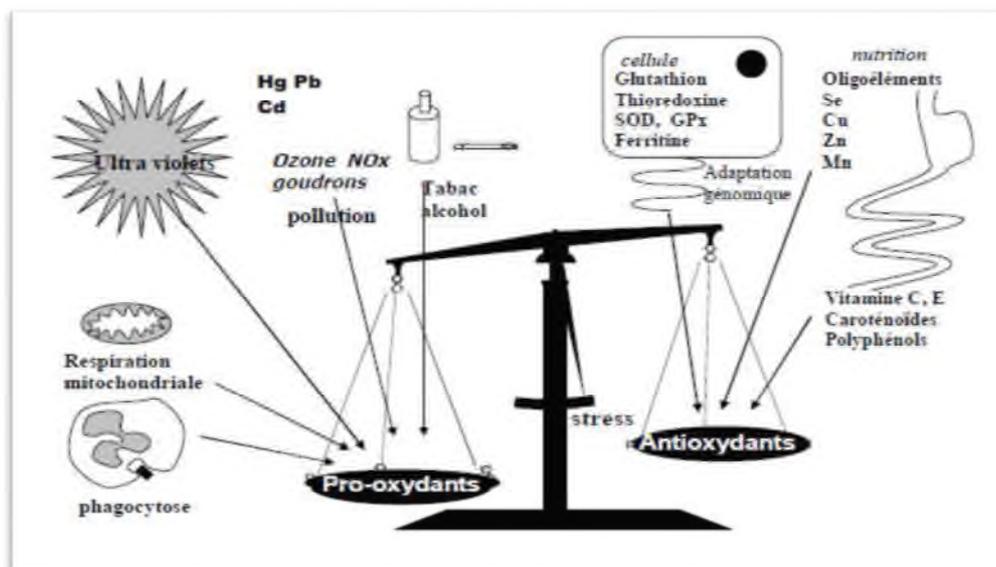


Figure 03 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

#### I-3-2- Radicaux libres

##### I-3-2-1- Définition

Un radical libre est défini comme une molécule ou un fragment moléculaire possédant un électron (ou plusieurs) non apparié qui se trouve le plus souvent sur l'orbitale externe de la molécule. Il est instable et a tendance à chercher à se stabiliser en s'appariant avec un électron appartenant à une autre molécule voisine provoquant ainsi sa déstabilisation et entraînant une réaction en chaîne qui aboutit à des destructions au niveau cellulaire (Halliwell et Gutteridge, 1989; Borg et Reeber, 2008).

### I-3-2-2- Nature des radicaux libres

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) et les espèces réactives d'azote (ERA) comportent :

- ✓ Des espèces radicalaire ; comme le radical super oxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), peroxyde ( $RO_2^{\bullet}$ ), hydro peroxydyle ( $HO_2^{\bullet}$ ), alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ ), peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ), oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ ), dioxyde de nitrogène ( $NO_2^{\bullet}$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $LOO^{\bullet}$ );
- ✓ Des espèces non radicalaires ; appeler aussi oxydants comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'acide hypochlorique ( $HOCl$ ), l'ozone ( $O_3$ ), l'oxygène singlet ( $^1O_2$ ), peroxyde nitrate ( $ONOO^-$ ), l'acide nitrique ( $HNO_2$ ), trioxyde di nitrogène ( $N_2O_3$ ), peroxyde lipidique ( $LOOH$ ) (Pham-Huy *et al.*, 2008).

### I-3-2-3- Génération des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être formés à partir de substances endogène et exogène. Différentes sources de radicaux libres sont citées comme suit ;

- Les neutrophiles et les macrophages durant l'inflammation ;
- Les rayons UV, les rayons X, les radiations gamma et les micro-ondes ;
- Durant les réactions de transport d'électrons dans les mitochondries ;
- Le cytochrome oxydase mitochondriale, la xanthine oxydase, et par la peroxydation lipidique ;
- Le métabolisme de l'acide arachidonique, plaquettes... etc ;
- L'interaction avec les produits chimiques, les échappements d'automobiles et la Fumé de cigarette ;
- La brûler de la matière organique pendant la cuisson, les feux de forêt et les activités volcaniques ;
- Les effluents industriels, les produits chimiques en excès, la consommation des produits alcooliques et certains médicaments, certains pesticides et herbicides, certains ions métalliques, toxines fongiques et xénobiotiques (Bagchi et Puri, 1998; Nagendrappa, 2005; Valko, 2006).

#### I-3-2-4-Rôles physiologiques

##### ➤ La Phagocytose et la défense immunitaire

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production intense d'ERO. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action de superoxyde dismutase (SOD) et la monoxyde d'azote synthétase (NOS) aboutissent à un mélange de  $O_2$ ,  $H_2O_2$ , OH en plus du HOCl, ce mélange réactionnel détruit par oxydation l'ensemble des composants bactériens (Favier, 2003; Delattre *et al.*, 2005).

##### ➤ La communication cellulaire

Les ERO peuvent agir en tant que molécules signaux et ainsi intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire (Delattre *et al.*, 2005).

Quelques mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les radicaux libres sont résumés comme suit:

- La régulation de l'expression des gènes;
- Les radicaux libres extracellulaires peuvent interagir avec certains récepteurs membranaires et les activer, ils sont ensuite à l'origine d'un signal cellulaire;
- Les radicaux libres peuvent intervenir en tant que second messenger intracellulaire (Delattre *et al.*, 2005).

#### I-3-2-5- Rôles pathologiques

##### ➤ Cibles biologiques des radicaux libres

**Les lipides :** Les lipides membranaires sont très susceptible d'être attaqués par les radicaux libres, quand les lipides s'interagissent avec ses composés ils peuvent subir des chaînes de réactions de peroxydation lipidique conduisant aux effets direct ou indirect (Devasagayam *et al.*, 2003).

**L'ADN :** L'ADN oxydé est le résultat d'interaction de l'ADN avec les ERO. Les radicaux libres comme  $OH^\bullet$  s'interagissent avec l'ADN en se liant aux bases azotées ou aux dérivés d'hydrogène du sucre. La double liaison C4-C5 des pyrimidines est particulièrement susceptible d'être attaqué par  $OH^\bullet$  générant ainsi une gamme de produits avec des pyrimidines oxydées (Halliwell et Aruoma, 1993).

**Les protéines :** Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ERO. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus et des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes (Atkin *et al.*, 2005).

**Les lipoprotéines :** L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL (low density lipoprotein) oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages provoquant ainsi leur transformation petit à petit en cellules spumeuses (Saad *et al.*, 1983; Nakajima *et al.*, 2006).

**Les glucides :** Les radicaux libres comme  $\text{OH}^\bullet$  se réagit avec les glucides par enlèvement d'un atome d'hydrogène au hasard à partir d'un atome de carbone, produisant un radical carboné centrale, cela va conduire à des cassures au niveaux des chaînes de molécules très importantes (Halliwell et Aruoma, 1993)

#### ➤ Les radicaux libres dans les maladies humaines

Les réactions des ERO ont été impliquées dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines dont :

- Les troubles neurodégénératifs comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose en plaques et la dépression ;
- Les maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose, l'hypertension, la cardiopathie ischémique et l'hypertrophie cardiaque ;
- Les troubles pulmonaires comme les inflammations pulmonaires, et l'asthme ;
- Les maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde ;
- Les troubles rénaux à savoir la glomérulonéphrite, la néphrite, l'insuffisance rénale chronique, et l'urémie ;
- Les maladies gastro-intestinales comme l'ulcère peptique, la maladie inflammatoire de l'intestin et la colite ;
- Les cancers comme le cancer du poumon, la leucémie, Cancer du sein, de l'ovaire, du rectum,... etc (Valko *et al.*, 2007; Pham-Huy *et al.*, 2008; Sen *et al.*, 2009).

### I-3-3- Antioxydants

#### I-3-3-1-Définition des antioxydants

L'antioxydant est une substance est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation d'une autre substance (Boubekri, 2014).

#### I-3-3-2- Actions des antioxydants

Les défenses anti oxydantes sont extrêmement importantes et représentent l'élimination directe des radicaux libres, fournissant ainsi une protection maximale aux sites biologiques. Un bon antioxydant doit :

- ✓ Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres ;
- ✓ Chélater des ions de métaux de transition d'importance biologique capables de promouvoir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton ;
- ✓ Interagir avec d'autres antioxydants et dans la mesure du possible les régénérer ;
- ✓ Capable de stimuler la synthèse des enzymes antioxydantes et inhiber l'activité des enzymes pro-oxydantes ;
- ✓ Avoir un effet positif sur l'expression génique ;
- ✓ Être rapidement absorbé ;
- ✓ Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques ;
- ✓ Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire (Valko *et al.*, 2006).

#### I-3-3-3- Classification des antioxydants

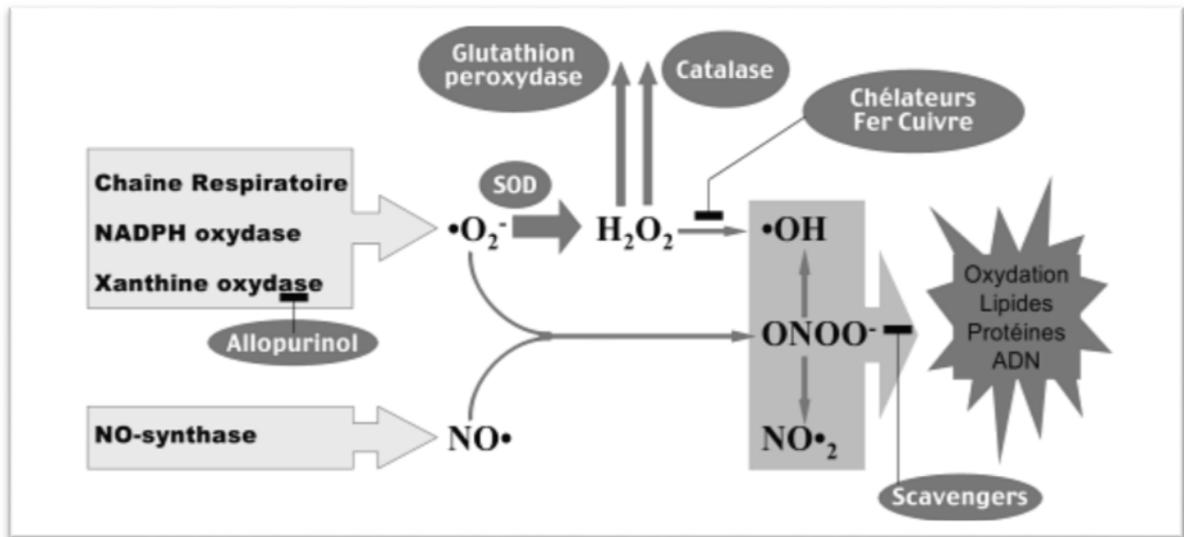
##### ➤ Les antioxydants enzymatiques

Les plus efficaces sont le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

**Superoxyde dismutase** : La SOD est l'enzyme antioxydante qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde hautement réactif en  $O_2$  et  $H_2O_2$  (Mate *et al.*, 1999).

**Catalase :** La CAT est située dans un organite cellulaire appelé le peroxysome, elle est responsable d'élimination de  $H_2O_2$  présent en grandes quantités et favorise sa transformation en eau et l'oxygène moléculaire (Mate *et al.*, 1999).

**Glutathione peroxydase :** La GPX est une enzyme selenium (Se)-dépendante, elle est présente dans le cytoplasme, elle catalyse la réduction des hydroperoxydes ( $H_2O_2$ ) et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène (Herbette, 2007).



**Figure 04 :** Action des antioxydants au cours du métabolisme des ERO (Pelletier *et al.*, 2004).

### ➤ Les antioxydants non enzymatiques

Ces antioxydants se divisent en deux principales catégories :

#### ❖ Les antioxydants endogènes

**Le glutathion :** C'est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants (Baudin *et al.*, 2006).

**L'acide urique :** C'est un piègeur de  $^1O_2$ , des radicaux peroxydes et hydroxyles ( $RO_2\cdot$  et  $HO\cdot$ ), de l'ozone et de  $HClO$  (Delattre *et al.*, 2005).

#### ❖ Les antioxydants exogènes

**La vitamine C :** L'acide ascorbique est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra- et extra-cellulaires (Vertuani *et al.*, 2004).

**La vitamine E :** La  $\alpha$ -tocophérol prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en captant les radicaux peroxy, elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et dans le vieillissement (Evans, 2002).

**Les caroténoïdes :** Ils sont l'un des pigments les plus répandus dans la nature. Une trentaine de caroténoïdes et de leurs métabolites a été identifiée dans le plasma et les tissus humains. Les caroténoïdes majoritaires sont : le  $\beta$ -carotène, le lycopène, la lutéine, la  $\beta$ -cryptoxanthine, l' $\alpha$ -Carotène, et la zéaxanthin (Bouhadjra, 2011).

**Les polyphénols :** Ils sont des puissants antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres et chélater les métaux de transition comme  $Fe^{2+}$  (Tsao, 2010).

➤ **Les antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Parmi les : le butylhydroxyanisole (BHA), le tertiarybutylhydroquinone (TBHQ), le 2, 4, 5-trihydroxybutyrophenone (THBP), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG) et le 4-hexylresorcinol (4HR) (Guo *et al.*, 2006).

**I-3-4- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro***

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques.

Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes :

- ❖ soit par le transfert d'atome d'hydrogène ; employées pour évaluer la peroxydation et la quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du pourcentage d'inhibition de l'oxydation (Sanchez-Moreno et Larrauri, 1998) ;
- ❖ soit par le transfert d'un simple électron, qui sont utilisées pour la mesure de la capacité du piégeage des radicaux libres (Sanchez-Moreno, 2002).

**MATERIEL  
ET  
METHODES**

## II- Matériel et méthodes

### II-1- Matériel

Les réactifs utilisés au cours de cette étude ainsi que les appareils ont été rapportés en Annexe N°1 et N°2 respectivement.

#### I-1-1- Matériel végétal

L'étude expérimentale a été réalisée sur la partie aérienne de la plante *Fumaria officinalis*.

### II-2- Méthodes

#### II-2-1- Préparation du matériel végétal

##### II-2-1-1- Récolte

La cueillette de *Fumaria officinalis* a été réalisée durant la période de floraison et de fructification où la plante est entièrement bien développée, la récolte a été réalisée au niveau du village d'Ighil nacer, commun d'Ighram, daïra d'Akbou, wilaya de Béjaïa, durant le mois de mars 2017.

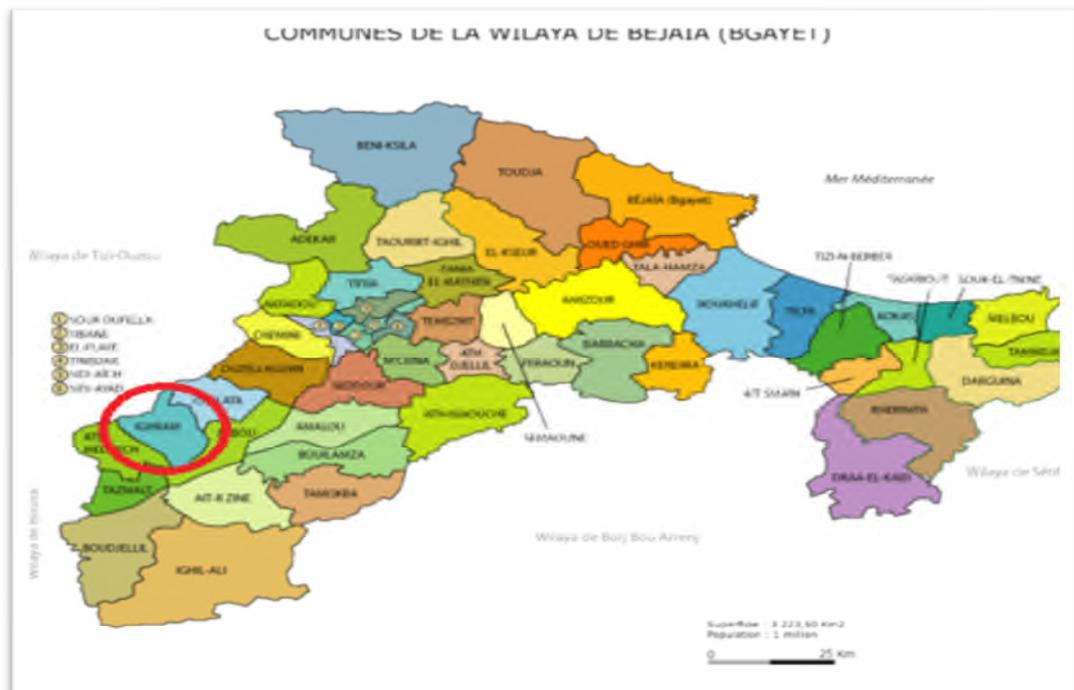


Figure 05 : Région de la récolte de *Fumaria officinalis* (anonyme).

### II-2-1-2- Identification

L'identification de cette plante a été effectuée au niveau du laboratoire de biotechnologies végétales et ethnobotanique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia.

### II-2-1-3- Séchage

Après lavage de la plante récoltée, pour se débarrasser des impuretés, elle est séchée, pendant une semaine dans l'étuve à 40°C (Kablan *et al.*, 2008).

La détermination du taux d'humidité a été faite par le calcul de la différence de poids avant et après le séchage selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = (P_0 - P_1/P_0) \times 100$$

**P0:** Poids frais de l'échantillon

**P1:** Poids sec de l'échantillon

### II-2-1-4- Broyage

Une fois séchée, les échantillons obtenus sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

### II-2-1-5- Tamisage

Les particules ainsi obtenus après broyage sont tamisées sur un tamis électrique de diamètre de 500, 250, 125 µm pour avoir une poudre fine et homogène.



**Figure 06 :** Photographes originales de la plante sèche et de la poudre de *Fumaria officinalis*.

La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre recouvert de papier aluminium, pour éviter la fermentation et la photo-oxydation qui peuvent altérer les substances actives.

### II-2-2- Extraction des composés phénoliques

Une quantité de 4 g du matériel végétal broyé ont été mélangés avec 500 ml de solvant d'extraction (l'eau, l'acétone à 50% et le méthanol à 50%).Après 3 heures de macération, les mélanges ont été filtrés et évaporés (Niemenak *et al.*, 2006).

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

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

La teneur en phénols totaux des différents extraits de la plante a été estimée par la méthode de Kähkönen *et al.* (1999) en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

#### ➤ Principe

Cette méthode est basée sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif de folin-ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), en oxydant les composés phénoliques, ce réactif est réduit en un mélange d'oxyde de tungstène ( $W_2PW_{23}$ ) et d'oxyde de molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). Ces produits ont une couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

#### ➤ Mode opératoire

Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10%) est ajouté à 0,2 ml de chaque extrait. Après 3 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) (7,5%) sont ajoutés. Le mélange est incubé une heure à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 740 nm contre un blanc sans extrait.

La concentration des composés phénoliques dans chaque extrait est exprimée en milligramme équivalent d'un standard par 100 g de matière sèche grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations d'acide gallique.

**II-2-3-2- Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes des extraits obtenus est déterminée par la méthode de La maison et Carnet, (1990).

**➤ Principe**

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres lors de chélation des métaux ; dans cette méthode c'est l'aluminium sous forme d'ions  $Al^{+3}$  ; après décomposition de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible qui est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

**➤ Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de chlorure d'aluminium (2%) est ajouté a chaque extrait. l'absorbance est lue à 410 nm, après 15 min d'incubation à température ambiante, contre un blanc sans extrait.

La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait est exprimée en milligramme équivalent d'un standard par 100 g de matière sèche grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations de quercétine.

**II-2-3-3- Dosage des tannins condensés**

L'estimation de la teneur en tannins condensés est réalisée par la méthode de Swain et Hillis, (1959).

**➤ Principe**

Le dosage des tannins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline ( $C_8H_8O_3$ ) en milieu acide (Price *et al.*, 1978).

**➤ Mode opératoire**

Un volume de 2 ml du réactif de la vanilline est mélangé avec 1 ml de chaque extrait. Après incubation à 50°C pendant 20 min, l'absorbance est lue à 500nm contre un blanc sans extrait.

La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait est exprimée en milligramme équivalent d'un standard par 100 g de matière sèche grâce à une courbe d'étalonnage obtenue avec différentes concentrations de catéchine.

#### II-2-4- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits *in vitro*

La détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus, en utilisant des extraits aqueux, méthanolique et acétonique, comme solvants d'extraction, a été réalisée en effectuant différents tests *in vitro* à savoir ;

##### II-2-4-1- Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (TAC) ou l'activité réductrice du molybdate des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène proposée par Prieto *et al.* (1999).

###### ➤ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de molybdène présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'antioxydant pour former un complexe vert de phosphate dans un milieu acide (Prieto *et al.*, 1999).

###### ➤ Mode opératoire

Un volume de 3 ml d'une solution préparée en mélangeant 0,6 M d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 28 mM de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) et 4 mM de molybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ ), est ajouté à 0,3 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. L'absorbance des solutions est mesurée, après refroidissement, à 695nm.

##### II-2-4-2- Capacité réductrice du fer

Le pouvoir réducteur (PR) des différents extraits est estimé en appliquant la méthode de Yildirim *et al.* (2001).

###### ➤ Principe

L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), en présence des

antioxydants réducteurs, dont la couleur est verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Gülçin *et al.*, 2003; Bijoy *et al.*, 2008).

➤ **Mode opératoire**

Un volume de 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ( $C_6N_6FeK_3$ ) (1%) est ajouté à 1 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). 2,5 ml d'acide trichloracétique ( $C_2HCl_3O_2$ ) (10%) sont ajoutés au mélange après une incubation de 20 min à 50°C. Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, 2,5 ml du surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

**II-2-4-3- Activité scavenger du radical DPPH'**

L'activité scavenger du DPPH' (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ )) des extraits de *Fumaria officinalis* est déterminée par la méthode de Kroyer et Hegedus, (2001).

➤ **Principe**

Cette méthode est basée sur le fait qu'un antioxydant a la capacité de donner un hydrogène au radical DPPH de couleur pourpre sous sa forme oxydée et donc le réduire en DPPH-H (2,2 Diphenyl-1- picryl hydrazine) de couleur jaune-verte (Molyneux, 2004).

➤ **Mode opératoire**

Un volume de 2,7 ml de DPPH (60  $\mu$ M) est ajouté à 0,3 ml de chaque extrait (à différentes concentrations). L'absorbance a été lue à 517nm, après 1 heure d'incubation à l'obscurité.

Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH est exprimé par la formule suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

**A<sub>témoin</sub>** : Absorbance du témoin.

**A<sub>échantillon</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

La valeur IC50 est définie comme la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition.

#### II-2-4-4- Activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup>

L'évaluation de la capacité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>) est déterminée par la méthode de Re *et al.* (1999).

##### ➤ Principe

Cette méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique), de coloration bleue verte et le transformer en ABTS-H<sup>+</sup> incolore, par un don d'hydrogène (Antolovich *et al.*, 2002).

##### ➤ Mode opératoire

La solution du radical ABTS<sup>•+</sup> a été préparée en mélangeant 2,45 mM d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution d'ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de 0,7±0,02 à 734nm.

Un volume de 2 ml de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> est ajouté à 20 µl d'extrait (à différentes concentrations). L'absorbance a été lue à 734 nm après 6 min d'incubation à l'obscurité.

Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction.

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup> est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

**A<sub>témoin</sub>** : Absorbance du témoin.

**A<sub>échantillon</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

### II-2-4-5- Test de blanchissement de $\beta$ -carotène

Le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène est réalisé par la méthode de Sun et Ho, (2005).

#### ➤ Principe

L'acide linoléique qui est dans un système d'émulsion aqueuse génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. La présence des antioxydants réduisent l'intensité de la destruction du  $\beta$ -carotène en neutralisant les radicaux libres dérivés et permet donc de prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène (Unten *et al.*, 1997).

#### ➤ Mode opératoire

Une quantité de 2 mg de  $\beta$ -carotène est dissoute dans 10 ml de chloroforme. 1 ml de cette solution est additionné à 200 mg de tween 20 et 20  $\mu$ l d'acide linoléique. Le chloroforme est éliminé ensuite par évaporation et 100 ml de l'eau oxygénée diluée sont ajoutés et le mélange résultant est agité vigoureusement.

Un volume 0,1 ml de chaque extrait et de l'antioxydant de synthèse BHA (à différentes concentrations) est ajouté à un volume de 2 ml de l'émulsion du  $\beta$ -carotène/acide linoléique. L'absorbance des extraits est mesurée à 470 nm après une incubation à 50°C pendant 120 min.

Le témoin est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction.

L'activité antioxydante (%) en termes de blanchissement de  $\beta$ -carotène des extraits a été évaluée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(A_{E(120)} - A_{T(120)}) / (A_{T(0)} - A_{T(120)})] \times 100$$

$A_{E(120)}$  : Absorbance de l'échantillon à 120min.

$A_{T(120)}$  : Absorbance de témoin à 120min.

$A_{T(0)}$  : Absorbance de témoin à 0min.

**II-2-5- Analyse statistique**

Tous les résultats expérimentaux ont été exprimés comme moyenne  $\pm$  l'écartype. L'analyse statistique des résultats obtenus est effectuée par l'application ANOVA du logiciel STATISTICA 5.5 afin de comparer significativement les données à une probabilité de  $p < 0,05$ . Les IC50 sont obtenus par le logiciel Origin 9. La significativité a été déterminée par le test de Spearman à  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ .

**RESULTATS  
ET  
DISCUSSION**

### III- Résultats et discussion

#### III-1- Taux d'humidité

Les résultats du test d'humidité sont représentés dans le tableau suivant ;

**Tableau IV:** Différents paramètres pour le calcul du taux d'humidité de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*.

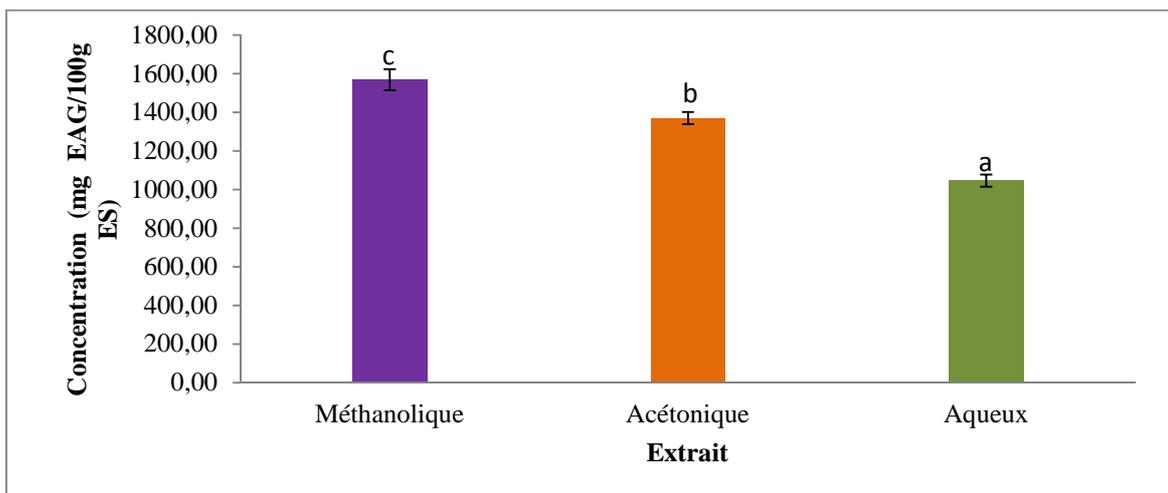
Poids sec(g)	Poids frais(g)	Taux d'humidité (%)
48,42	154,85	68,73

Ces résultats indiquent que *Fumaria officinalis* est riche en eau avec une valeur de 68,73%, cette teneur est inférieure à celles trouvées par d'autres travaux qui ont été réalisés sur les fumeterres et qui ont montré un taux d'humidité de 85% (Susplugas et al., 1975), cela peut être expliqué par la différence de la nature du sol, du climat et de la région de la récolte de la plante.

#### III-2- Teneur en composés phénoliques

##### III-2-1- Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénolique des 3 extraits de *Fumaria officinalis* ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage d'acide gallique (Annexe N°3). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par 100 gramme d'extrait sec (mg EAG/100g ES) et ils sont représentés dans la figure 07 suivante ;



**Figure 07 :** Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Fumaria officinalis* ( $p < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

La figure 07 montre que l'extrait méthanolique possède la plus haute teneur en polyphénols ( $1568,08 \pm 54,07$  mg EAG/100g ES), suivi par l'extrait acétonique ( $1369,81 \pm 31,22$  mg EAG/100g ES). L'extrait aqueux a montré la teneur la plus faible ( $1045,38 \pm 31,22$  mg EAG/100g ES). L'analyse statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les teneurs en polyphénols de tous les extraits de *Fumaria officinalis* ( $p < 0,05$ ).

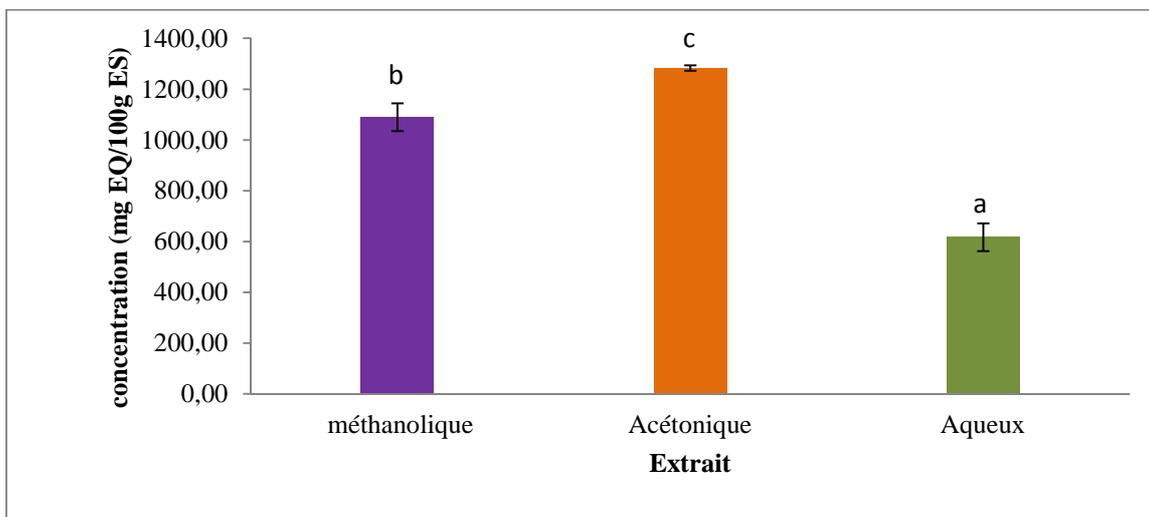
La teneur en composés phénoliques dans les extraits de la plante dépend de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant le méthanol est expliquée par la solubilité élevée des phénols dans les solvants plus ou moins polaires. En effet, il a été constaté, dans cette étude que le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols sont le méthanol.

Cependant, toutes les valeurs notées dans la présente étude sont inférieures à celles enregistrées dans une étude réalisée par Sousek et *al.* (1999) qui sont de l'ordre de  $2983 \pm 42$  mg/100g ES ; Cette variation peut être due à l'influence de divers facteurs parmi lesquels le climat, la localisation géographique et la température (Ryan *et al.*, 1999 ; Benlarbi, 2004).

### III-2-2- Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des trois extraits de *Fumaria officinalis* à été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage de la quercétine (annexe N°4). Les résultats

obtenues ont été rapportés en milligrammes équivalent de la quercétine par cent gramme d'extrait sec (mg EQ/100g ES) et ils sont représentées dans la figure 08 ci-dessous ;



**Figure 08:** Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Fumaria officinalis* ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ ).

Les résultats obtenus ont révélés une différence significative entre la teneur en flavonoïdes des trois extraits ( $p < 0,05$ ), la teneur en flavonoïdes a été montrée plus importante dans les deux extraits acétonique et méthanolique avec des valeurs de l'ordre de  $1283,17 \pm 10,48$  en mg EQ/100 g et  $1089,48 \pm 54,47$  mg EQ/100 g ES respectivement .La plus faible teneur a été remarquée dans l'extrait aqueux ( $617,37 \pm 54,47$  en mg EQ/100 g ES).

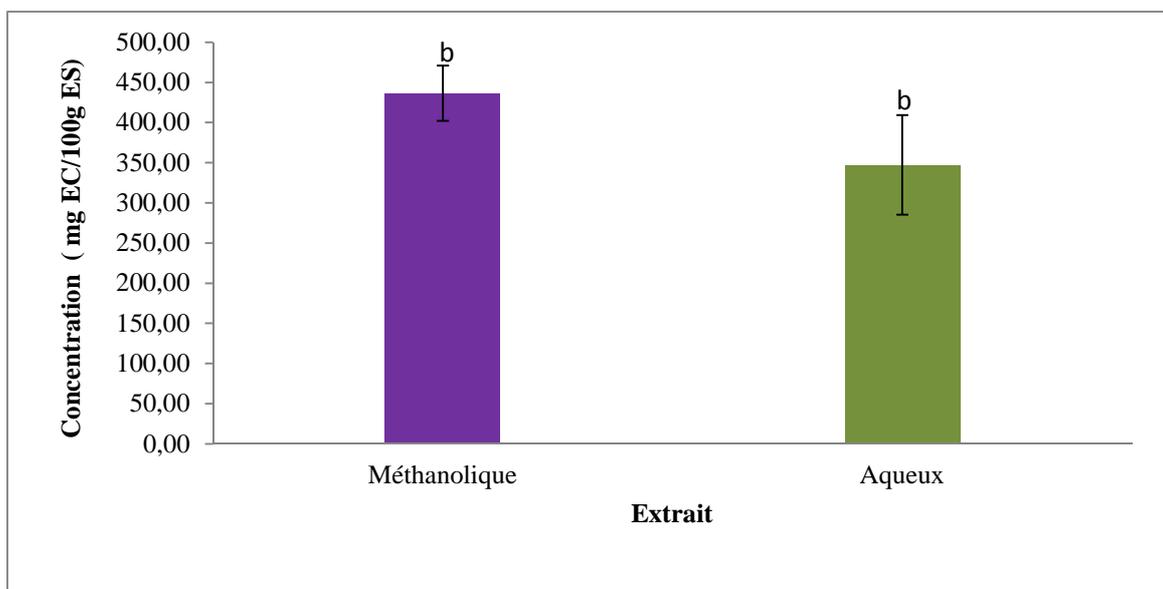
D'après ces résultats, l'acétone est le meilleur solvant d'extraction qui a permis d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïdes par rapport aux extraits méthanolique et aqueux.

Ces données ont permet de déduire que les flavonoïdes représentent la fraction majoritaire des phénols totaux dans les trois extraits étudiés ce qui s'accorde avec la littérature citant les flavonoïdes comme le composant chimique majoritaire de *Fumaria officinalis* après les alcaloïdes (Torck *et al.*, 1971).

Les teneurs en flavonoïdes obtenus pour les trois extraits sont supérieures à celle trouvée par Paltinean *et al.* (2017) qui est de 470 mg EAG/100g ES chez *Fumaria officinalis* ce qui signifie que l'espèce algérienne est plus riche en flavonoïdes.

**III-2-3- Teneur en tannins condensés**

La quantité des tannins dans les trois extraits de *Fumaria officinalis* à été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage de la Catéchine (Annexe N°5). Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent de la catéchine par cent gramme d'extrait sec (mg EC/100g ES) et elles sont représentées dans la figure 09 ci-dessous ;



**Figure 09 :** Histogramme représentant la teneur en tannins condensés des différents extraits de *Fumaria officinalis* ( $p < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

A la lumière de ces résultats, le dosage des tannins condensés a montré que l'extrait méthanolique a obtenu une meilleure extraction pour les tannins avec une valeur de  $436,66 \pm 34,38$  mg EC/100g ES, suivi par l'extrait aqueux avec une valeur de  $347,35 \pm 61,98$  mg EC/100 g ES cependant aucune résultat a été obtenue par l'extrait acétonique à cause de l'interaction de l'acétone et la vanilline.

L'analyse statistique ( $p < 0,05$ ) a montré une absence de différence significative entre les résultats obtenus par les deux extraits. Cela montre que les tannins condensés sont plus solubles dans les solvants polaires.

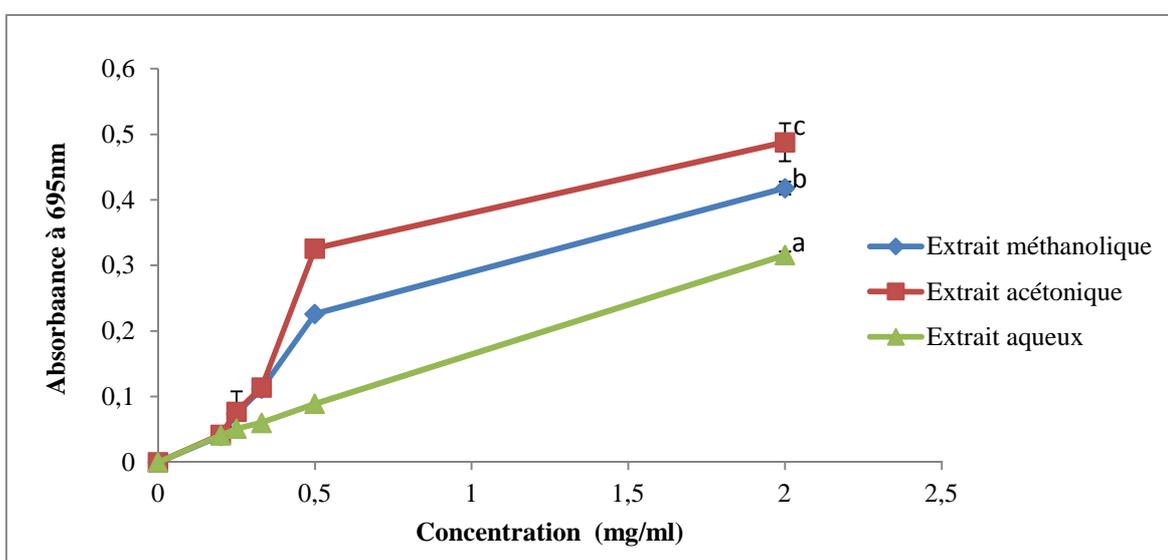
Ces quantités restent toujours inférieures à celle des polyphénols et des flavonoïdes. En effet, *Fumaria officinalis* est pauvre en tannins (environ 27% de la teneur en polyphénols totaux de cette plante).

### III-3- Activité antioxydante des extraits *in vitro*

L'activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Fumaria officinalis* a été évaluée par cinq tests *in vitro*, à savoir : la capacité antioxydante totale, Le pouvoir réducteur, l'activité scavenger du DPPH et de l'ABTS et le test de blanchissement de la  $\beta$ -carotène.

#### III-3-1- Capacité antioxydante totale

Les résultats obtenus pour la capacité antioxydante de cette plante sont montrées dans la figure 10 ci-dessous ;



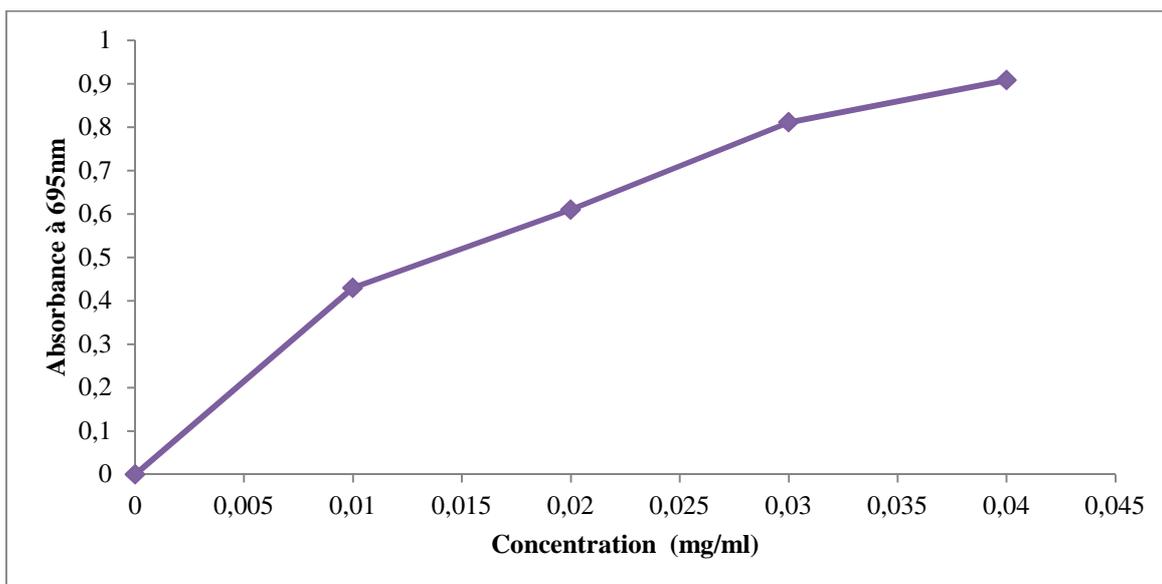
**Figure 10 :** Capacité antioxydante totale des différents extraits phénoliques de *Fumaria officinalis* à différentes concentrations ( $p < 0,05$ ) ( $n = 3$ ).

Cette figure montre que tous les extraits présentent des activités antioxydantes importantes avec des différences significatives ( $p < 0,05$ ). Elles sont proportionnelles aux absorbances qui, selon le graphe, augmentent en fonction de la concentration.

L'extrait acétonique possède la meilleure capacité antioxydante représentée par son absorbance maximale qui est de  $0,488 \pm 0,029$ , obtenue pour une concentration de 2mg/ml, tandis que, les extraits méthanolique et aqueux révèlent des activités réductrices inférieures montrées par leurs absorbances maximales à cette même concentration, qui sont de l'ordre de  $0,418 \pm 0,010$  et  $0,316 \pm 0,005$  respectivement, ce qui signifie que l'extraction par l'acétone est favorable pour évaluer la capacité antioxydante totale. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que, l'extrait acétonique, présentant une capacité antioxydante

importante, renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort que les autres solvants d'extraction utilisés.

Comparant les résultats obtenus pour les extraits avec ceux de l'acide ascorbique (figure 11), il est à suggérer que les extraits phénoliques de *Fumaria officinalis* ont une capacité antioxydante considérable mais reste faible par rapport au standard qui a révélé une activité antioxydante maximale pour une faible concentration de 0,04mg/ml représentée par une absorbance de 0,908.

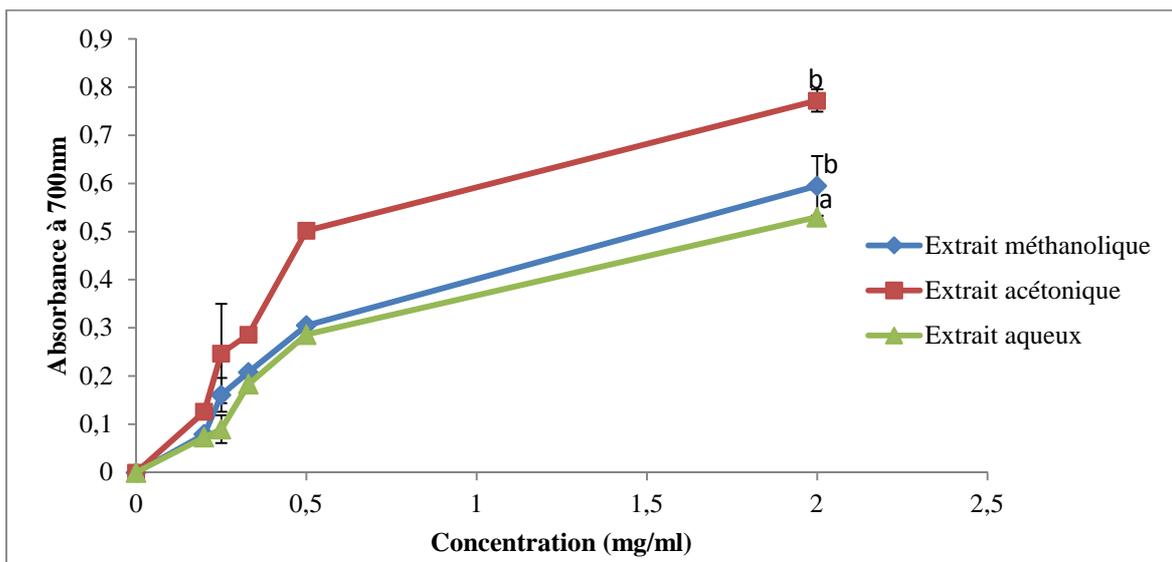


**Figure 11 :** Capacité antioxydante totale du standard testé (Acide ascorbique) à différentes concentrations.

Cette capacité antioxydante totale chez *Fumaria officinalis* révélée par cette étude peut être contrôlée par la nature et la concentration des antioxydants. La position et la richesse en groupement hydroxyle ainsi que la présence des composés O-phénoxy (acide caféique) intervenant dans cette propriété et permettant d'avoir une meilleure activité réductrice (Lessage Meesen et *al.*, 2001; Mc Donald et *al.*, 2001 )

### III-3-2- Capacité réductrice du fer

Les résultats du pouvoir réducteur du fer des extraits phénoliques de *Fumaria officinalis* sont représentés dans la figure 12 ci-dessous ;

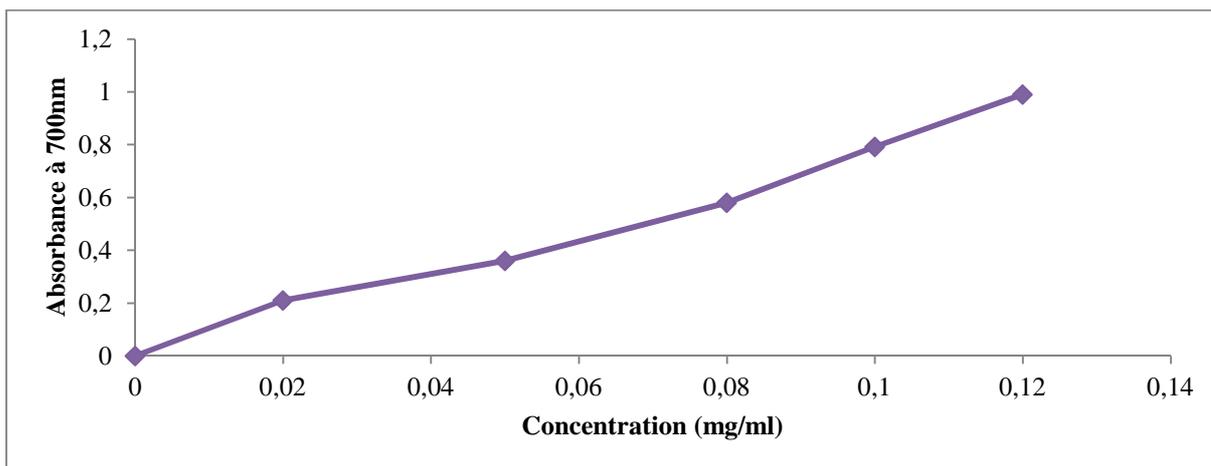


**Figure 12 :** Pouvoir réducteur des différents extraits phénolique de *Fumaria officinalis* à différentes concentrations ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ ).

D'après les résultats montrés dans la figure 12, il a été remarqué que tous les extraits possèdent un pouvoir réducteur plus ou moins important, avec une différence significative entre les valeurs révélées pour les extraits acétonique et aqueux et entre celles des extraits méthanolique et aqueux ( $p < 0,05$ ).

A une concentration de 2mg/ml, l'extrait acétonique a révélé un pouvoir réducteur maximum de l'ordre de  $0,772 \pm 0,023$ , tandis que les extraits méthanolique et aqueux montrent des valeurs plus faibles, à la même concentration, qui sont de l'ordre de  $0,595 \pm 0,062$  et  $0,530 \pm 0,003$  respectivement, ce qui signifie que l'extraction par l'acétone est la plus convenable pour effectuer le test d'évaluation du pouvoir réduction de fer pour *Fumaria officinalis*.

Il a été montré que, les extraits phénoliques de *F. officinalis* possèdent un faible pouvoir réducteur par comparaison au standard (figure 13) qui a révélé une valeur d'absorbance de 0,990 à une concentration de 0,12 mg/ml.



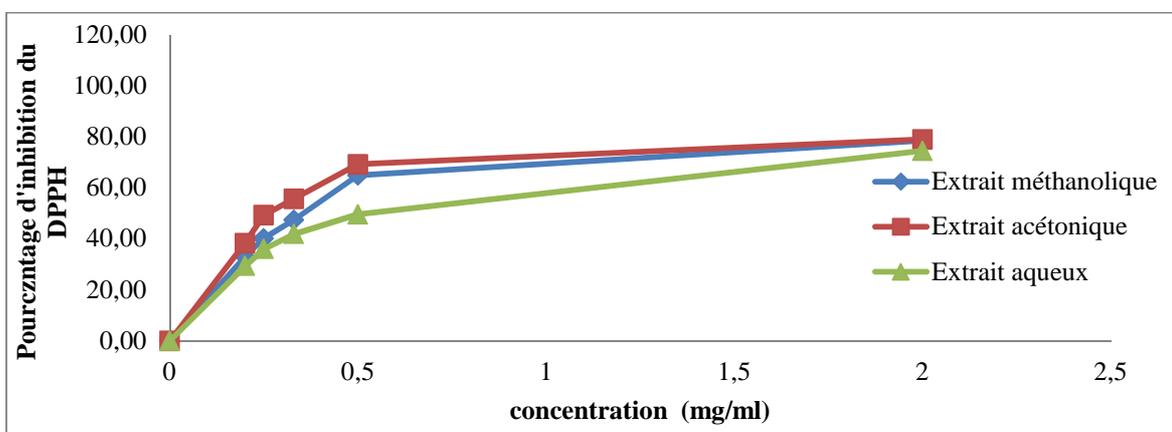
**Figure 13 :** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont supérieurs à ceux rapportés par Orhan *et al.* (2010), employant un extrait éthanolique brut des composés phénoliques chez quatre espèces du genre *Fumaria* à savoir *F. cilicica* ( $0,246 \pm 0,01$ ), *F. densiflora* ( $0,215 \pm 0,01$ ), *F. kraklii* ( $0,265 \pm 0,01$ ) et *F. parviflora* ( $0,274 \pm 0,02$ ) à une concentration de 0,5mg/ml.

Les extraits phénoliques de la partie aérienne de *Fumaria officinalis* exercent une bonne activité réductrice qui peut être contrôlée par la nature et la concentration des antioxydants et la position et le nombre d'hydroxylations (Mc Donald *et al.*, 2001).

### III-3-3- Activité scavenger du radical DPPH'

Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir piègeur en fonction de la concentration de chaque extrait de *Fumaria officinalis*.



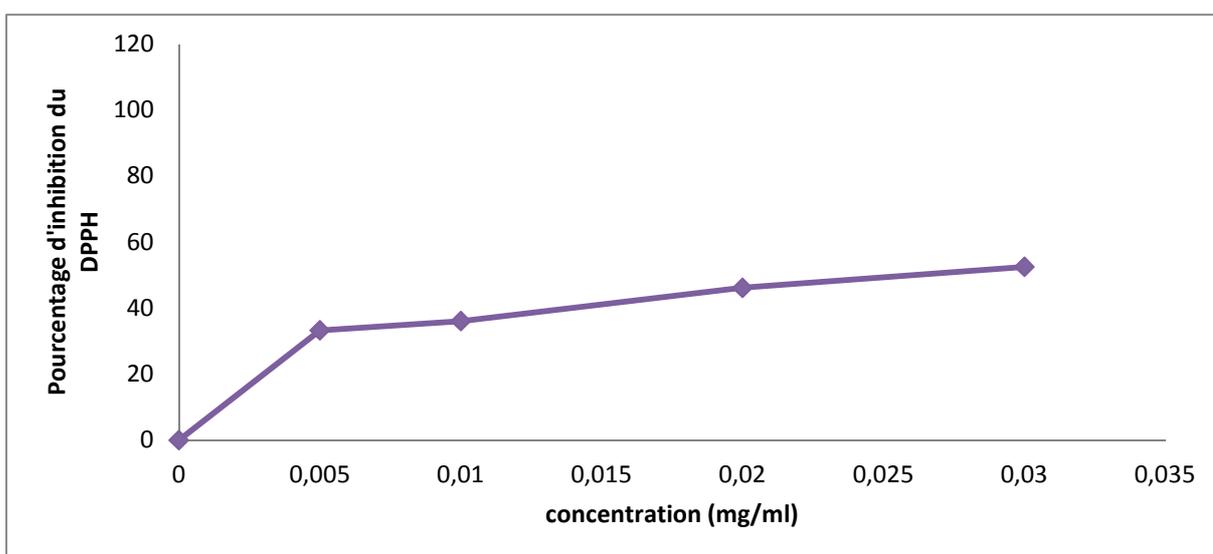
**Figure 14 :** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH' des extraits de *Fumaria officinalis* à différentes concentrations.

Selon les résultats montrés dans la figure 13, les trois extraits phénoliques de la plante ont un pourcentage d'inhibition important vis-à-vis du radical DPPH, qui augmente en fonction de la concentration.

En effet, après l'ajout de la solution du DPPH, le changement de la couleur apparue avec différentes intensité dans les échantillons à des concentrations variées, a chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente ce qui confirme que l'activité anti-radicalaire est dépendante de la quantité de composés antioxydants présente dans les extraits (Katalinic *et al.*, 2006).

Le pourcentage maximum enregistré pour les trois extraits à la concentration de 2mg/ml est de l'ordre de 78,69 %  $\pm$ 1,56 et 78,43 %  $\pm$ 0,29 pour l'extrait acétonique et méthanolique respectivement qui sont légèrement supérieur au pourcentage révélé par l'extrait aqueux qui est de l'ordre de 74.43 %  $\pm$ 1.78. Les extraits acétonique et méthanolique sont doté d'un pouvoir antioxydant légèrement important par apport à celui de l'extrait aqueux.

Il a été constaté que tous les extraits ont exhibé des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH inférieurs à celui de l'acide ascorbique (figure 15) qui a révélé des pourcentages d'inhibition très élevé pour des concentrations très basses d'où il a été enregistré un pourcentage de 52,48 % à la concentration 0,03mg/ml.



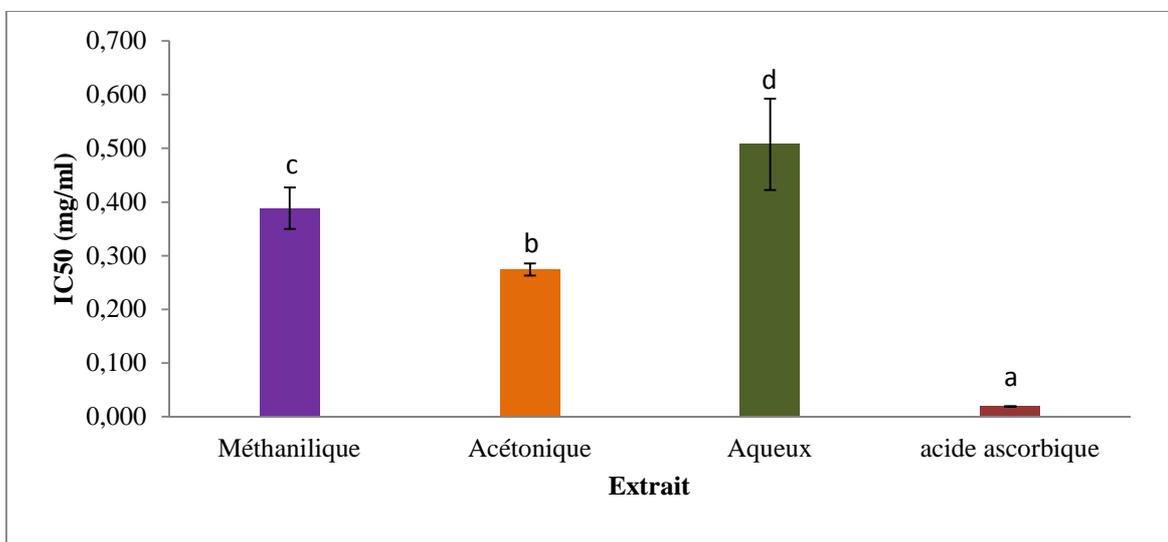
**Figure 15:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Cela a été expliqué par De Pooter *et al.* (1986) qui a démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique et le tocophérol réduisent et décolorent le DPPH à des concentrations faibles en raison de leur immense capacité à céder l'hydrogène.

#### ➤ Détermination des IC50

L'activité scavenger du DPPH des différents extraits peut être déterminée à partir des valeurs de l'IC50; Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Les valeurs d'IC50 de chaque extrait sont représentées dans l'histogramme suivant ;



**Figure 16:** Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de *Fumaria officinalis* et de l'acide ascorbique pour l'activité scavenger de DPPH ( $p < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

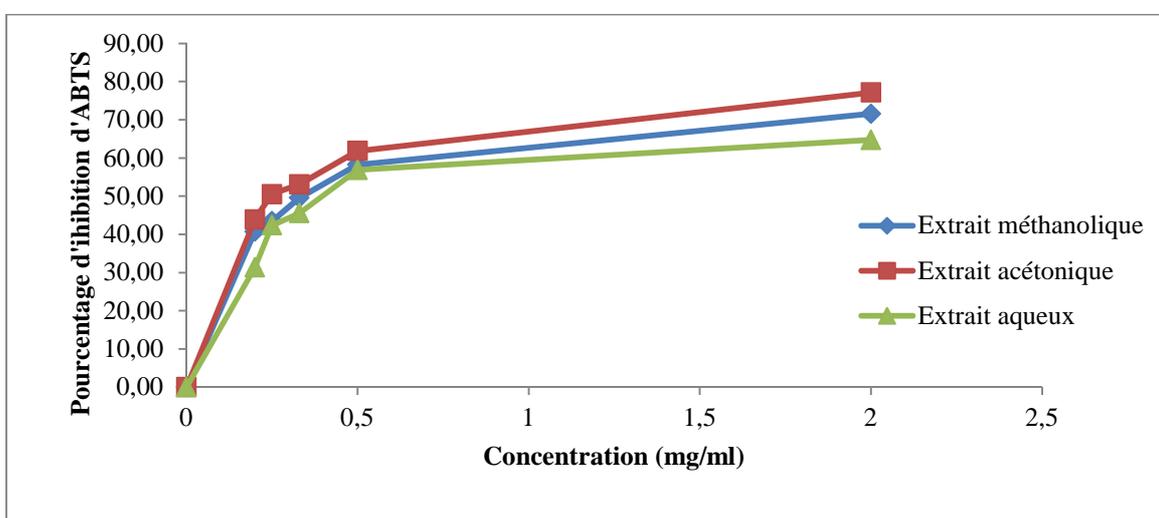
La figure 16 signale une différence significative entre les IC50 de tous les échantillons ( $p < 0,05$ ). L'extrait acétonique a donné la plus faible valeur d'IC50 qui est de  $0,247 \pm 0,011$  mg/ml ce qui reflète sa meilleure activité anti-radicalaire, suivi par l'extrait méthanolique avec une IC50 de l'ordre de  $0,388 \pm 0,038$  mg/ml et l'extrait aqueux avec une IC50 de  $0,507 \pm 0,085$  mg/ml. Les valeurs d'IC50 obtenus avec les trois extraits phénoliques sont supérieures à l'IC50 du standard dont l'activité anti radicalaire est la plus importante (0,019 mg/ml).

L'ordre d'efficacité peut être résumé comme suit acide ascorbique > extrait acétonique > extrait méthanolique > extrait aqueux.

Les résultats de cette étude restent supérieurs trois fois à ceux trouvés par Orhan *et al.* (2010) chez les espèces de *F. cilicica* (11,99%), *F. densiflora* (13,27%) et *F. kralikii* (11,25%), cela pourrait être attribuer à la différence de la nature des polyphénols car l'activité scavenger du radical DPPH dépend de la structure des polyphénols, la présence d'hydrogène phénolique et le nombre de groupements donneurs d'hydrogène (Dawidowicz *et al.*, 2006).

### III-3-4- Activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup>

Les résultats d'activité scavenger du radical ABTS des extraits de *Fumaria officinalis* sont représentés dans la figure suivante ;



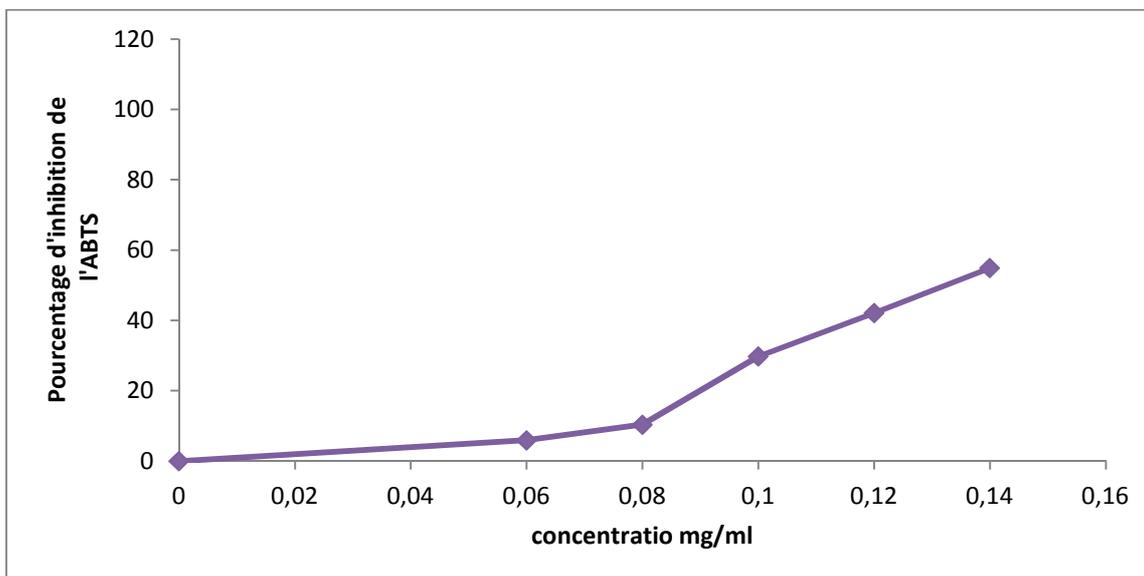
**Figure 17:** Pourcentages d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> des extraits de *Fumaria officinalis* à différentes concentrations.

A partir de la figure 17, il a été constaté que, les extraits de *Fumaria officinalis* ont montré de puissant effet scavenger contre le radical ABTS et que l'activité anti-radicalaire vis-à-vis de ce radical est concentration dépendante.

A la concentration de 2 mg/ml, l'extrait acétonique a donné le plus grand pourcentage d'inhibition, qui est de  $77,12 \pm 2,20\%$  suivi par l'extrait méthanolique avec un pourcentage d'inhibition de  $71,56 \pm 7,51\%$  puis l'extrait aqueux avec un pourcentage de  $64,72 \pm 0,32\%$  pour la même concentration.

L'extrait acétonique, exerce la plus grande activité anti-radicalaire par rapport aux autres extraits ; cependant l'acide ascorbique (figure 18) a révélé le pourcentage

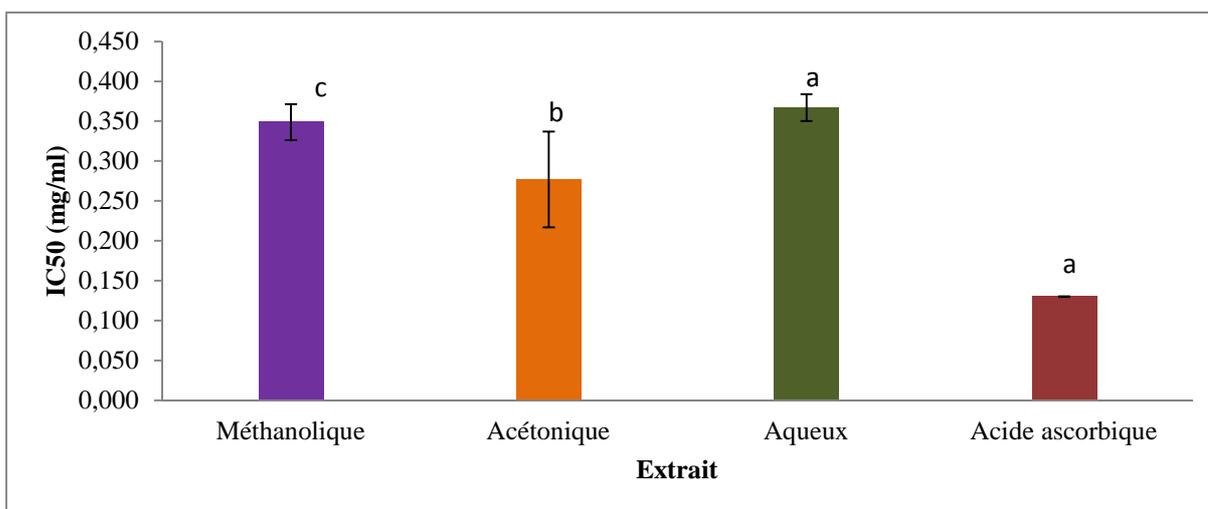
d'inhibition le plus élevé par comparaison aux extraits phénoliques de *F. officinalis*, (54,91% pour une concentration de 0,14 mg).



**Figure 18:** Pourcentages d'inhibition du radical ABTS de l'acide ascorbique à différentes concentrations.

#### ➤ Détermination des IC50

L'histogramme de la figure 19 représente les valeurs d'IC50 des différents échantillons ;



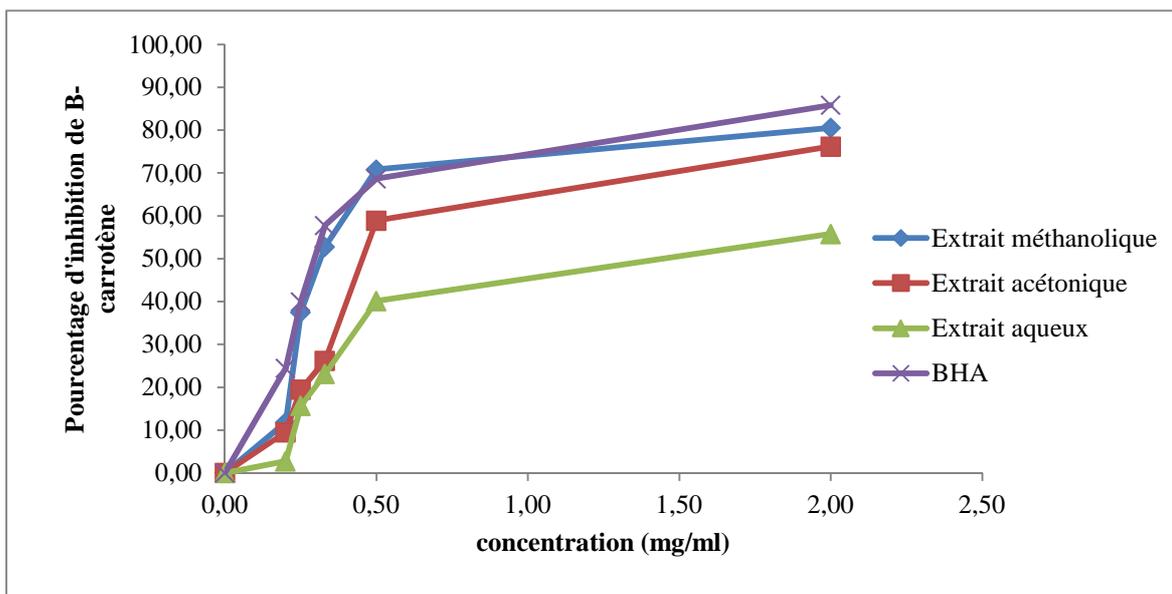
**Figure 19:** Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de *Fumaria officinalis* et de l'acide ascorbique pour l'activité scavenger d'ABTS ( $p < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

Les valeurs de la concentration inhibitrice à 50% du radical ABTS ont montré que l'extrait acétonique possède la meilleure activité réductrice avec une faible concentration inhibitrice ( $IC_{50}=0,277\pm 0,060\text{mg/ml}$ ). Une faible activité anti radicalaire a été enregistrée avec les extraits méthanolique et aqueux représentée par des  $IC_{50}$  de  $0,349\pm 0,023\text{mg/ml}$  et  $0,367\pm 0,017\text{mg/ml}$  respectivement, par contre, les trois extraits possèdent une activité anti-radicalaire très inférieure par rapport à l'acide ascorbique qui possède une faible concentration inhibitrice de  $0,130\text{mg/ml}$ .

En effet, *Fumaria officinalis* est dotée d'une activité scavenger du radical ABTS et ceci peut être expliqué par sa richesse en composés phénolique majoritairement des flavonoïdes qui sont des antioxydants puissants capables d'inhiber ce radical.

### III-3-5- Test du blanchissement de $\beta$ - carotène

Les résultats d'inhibition de décoloration de la solution de  $\beta$ -carotène des extraits phénoliques de *Fumaria officinalis* sont représentés dans la figure suivante ;



**Figure 20 :** Pourcentages d'inhibition des différents extraits de *Fumaria officinalis* et de la BHA à différentes concentrations pour le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène.

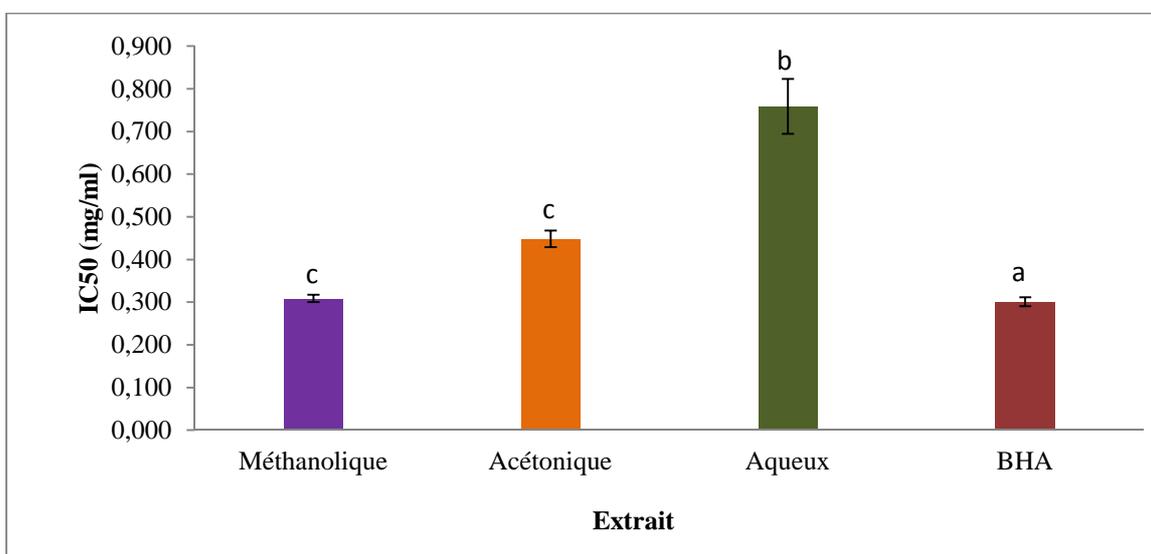
Les résultats de la figure 20 indiquent que les extraits phénoliques de *Fumaria officinalis* ainsi que le BHA, inhibent l'oxydation couplée de l'acide linoléique  $\beta$ - carotène et que le pourcentage d'inhibition est proportionnel aux concentrations testées.

L'inhibition la plus élevée, selon les pourcentages d'inhibition, a été enregistré par l'extrait méthanolique ( $80,56 \pm 3,18\%$ ) suivie, par l'extrait acétonique ( $76,19 \pm 2,73\%$ ) et l'extrait aqueux ( $55,78 \pm 3,12\%$ ).

Le standard BHA a révélé un pourcentage d'inhibition plus important qui est de  $85,56 \pm 1,92\%$  par rapport aux extraits de la plante étudiée à la même concentration qui est de 2mg/ml, à l'exception de l'extrait méthanolique qui a montré un pourcentage d'inhibition proche de celui de standard.

#### ➤ Détermination des IC50

Les valeurs d'IC50 de l'oxydation de l'acide linoléique couplée au  $\beta$ - carotène sont représentées dans l'histogramme suivant ;



**Figure 21** : Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des différents extraits de *Fumaria officinalis* et de la BHA pour le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène ( $p < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

A partir des valeurs d'IC50 obtenus, il a été observé que l'extrait méthanolique, montre la plus grande activité inhibitrice avec une IC50 de  $0,309 \pm 0,009$  mg/ml par rapport à l'extrait acétonique avec une IC50 de  $0,448 \pm 0,020$  mg/ml, suivi par l'extrait aqueux qui représente l'extrait le moins actif ( $IC_{50} = 0,759 \pm 0,064$  mg/ml).

L'analyse statistique ( $p < 0,05$ ) a montré une différence significative entre les extraits et le standard (BHA) mais aucune différence n'a été constatée entre l'extrait acétonique et l'extrait méthanolique.

Ces résultats restent toujours inférieures à celle du standard BHA qui présente une valeur d'IC50 plus faible (IC50= 0,301mg/ml).

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique est statistiquement supérieure à celle de l'extrait acétonique et l'extrait aqueux. Il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques (qui entrent dans la composition des extraits) influençant le pouvoir antioxydant des extraits (Sokol-Letowska, 2007).

En effet, les résultats obtenus peuvent être attribuées au fait que, la plante *Fumaria officinalis* est riche en antioxydants apolaires puissants permettant d'inhiber l'oxydation de l'acide linoléique couplée à la  $\beta$ - carotène car le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène est similaire à un système d'émulsion de lipides dans l'eau d'ou les antioxydants apolaires montrent des propriétés antioxydantes et ils se concentrent au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi la prévention de la formation des radicaux lipidiques et l'oxydation du  $\beta$ -carotène (Frankel et Meyer, 2000).

#### III-4- Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques de *Fumaria officinalis*

La corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques des extraits de *F. officinalis* est représentée dans le tableau V.

**Tableau V:** Matrice de corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en polyphénols des extraits de *Fumaria officinalis*.

Variable	Phénols totaux	Flavonoïdes	Tannins condensés	TAC	P R	DPPH	ABTS	$\beta$ -carotène
Phénols totaux	1	0.77***	0.13	0.71***	0.39	-0.59	-0.21	-0.98***
Flavonoïdes		1	-0.51	0.97***	0.84***	-0.87***	-0.66	-0.81***
Tannins condensés			1	-0.56	-0.82***	0.54	0.64	-0.07
TAC				1	0.82***	-0.86***	-0.58	-0.75***
P R					1	-0.86***	-0.77***	-0.43
DPPH						1	0.76***	0.65
ABTS							1	0.34
$\beta$ -carotène								1

\*p < 0,05, corrélation significative.

\*\*p < 0,01, corrélation très significative.

\*\*\*p < 0,001, corrélation très hautement significative. n=3

Les résultats obtenus ont révélés une corrélation très hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes, par contre aucune corrélation n'a été constatée entre les polyphénols et les tannins condensés ce qui signifie que les composés phénoliques de *Fumaria officinalis* sont représentés majoritairement par les flavonoïdes.

L'analyse des données (Tableau V) a révélé que la corrélation entre les teneurs en polyphénols des différents extraits de *Fumaria officinalis* et certaines activités antioxydantes testées (DPPH, ABTS et PR) ; entre les teneurs en flavonoïdes et l'ABTS ; et entre les teneurs en tannins condensés et certaines activités antioxydantes (TAC, DPPH, ABTS et  $\beta$ -carotène) est non significative ( $p < 0,05$ ). Ces résultats montrent que ces activités pourraient être dues à la qualité des polyphénols.

Cependant, la corrélation entre les teneurs en polyphénols et la TAC et  $\beta$ -carotène ; entre les teneurs en flavonoïdes et la TAC, PR, DPPH et  $\beta$ -carotène ; et entre les teneurs en tannins avec le PR, s'avère très hautement significative ( $P < 0,001$ ), ceci pourrait s'expliquer par la dépendance de ces activités antioxydantes des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins dans les différents extraits.

Les activités antioxydantes (DPPH, ABTS, et PR) testées ont présenté des corrélations très hautement significatives ( $P < 0,001$ ) avec la capacité antioxydante totale, ces résultats indiquent que les polyphénols responsables de la TAC sont les mêmes que ceux intervenants dans les autres activités antioxydantes à savoir DPPH, ABTS et PR.

L'activité scavenger de l'ABTS a présenté une corrélation très hautement significative ( $P < 0,001$ ) avec le pouvoir réducteur et l'activité scavenger du DPPH. L'analyse de ces résultats indique que les polyphénols de *Fumaria officinalis* ont une activité anti radicalaire et réductrice.

Au regard de ces résultats, il est à suggérer que, les flavonoïdes de *Fumaria officinalis* sont responsables des quatre activités antioxydantes étudiées à savoir : la capacité antioxydante totale, le pouvoir réducteur, l'activité scavenger du DPPH et le blanchissement de  $\beta$ -carotène. Les tannins condensés interviennent seulement dans la réduction du fer. Ces constatations ont été déduites à partir des corrélations très hautement significatives révélées entre ces différentes variables, ce qui confirme que les flavonoïdes sont les antioxydants majoritairement responsables de l'activité antioxydante de *Fumaria officinalis* à l'exception de l'activité scavenger de l'ABTS qui n'a présenté aucune corrélation avec les composés phénolique dosés.

CONCLUSION  
ET

PERSPECTIVES

## Conclusion et perspectives

Notre étude a été consacrée au dosage de quelques composés phénoliques dont les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, afin d'étudier les activités antioxydantes des extraits de *Fumaria officinalis* de la région d'Akbou de Bejaia.

Les résultats obtenus ont montré que *Fumaria officinalis* est riche en phénols totaux représentés majoritairement par les flavonoïdes et une faible fraction de tanins condensés et l'étude statistique des résultats a révélé que les teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et en tanins condensés présentaient des différences significatives qui varient en fonction des solvants d'extraction utilisés et des concentrations considérées  $P < 0,05$ . La plus forte teneur a été révélée par l'extrait méthanolique (50%) pour les composés phénoliques et les tanins condensés. Alors que l'extrait acétonique (50%) a révélé une plus forte teneur pour les flavonoïdes. La plus faible teneur a été révélée par l'extrait aqueux pour les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins condensés.

Les résultats de la présente étude, ont révélés que les extraits de *Fumaria officinalis* ont une activité antioxydante qui varie toujours en fonction du solvant d'extraction et de la concentration ( $P < 0,05$ ). Les extraits de *Fumaria officinalis* ont exercé une bonne activité réductrice du molybdate et du fer, une activité anti radicalaire vis-à-vis du radical DPPH et de l'ABTS et une activité inhibitrice du blanchissement de  $\beta$ -carotène. Les activités antioxydantes exercées par les extraits de *Fumaria officinalis* peuvent être expliquées par la richesse de cette plante en molécules antioxydantes comme les polyphénols qui sont à l'origine des bienfaits de la plante.

L'efficacité antioxydante de *Fumaria officinalis* n'est sans doute qu'une simple partie de toutes les activités dont elle est dotée. Il serait donc intéressant d'envisager comme perspective d'approfondir les recherches d'optimisation des procédés d'extraction, de fractionnement et l'identification afin de caractériser d'autres composés qui peuvent avoir d'autres activités et donc d'autres effets thérapeutiques. Ce qui aiderait à valoriser la plante dans le domaine de la médecine traditionnelle.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques

### « A »

- Antolovich M., Prenzler P D., Patsalides E., McDonald S & Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, **127**:183–198.
- Anonyme : lien : [http://www.kabyle.com/archives/cartes-kabylie-tamazgha/article/carte-wilaya-de-bejaia-bgayet\\_25/03/2017](http://www.kabyle.com/archives/cartes-kabylie-tamazgha/article/carte-wilaya-de-bejaia-bgayet_25/03/2017) 15 :25.
- Atkin MA., Gasper A & Ullegaddi R. (2005). Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants in vitro and to antioxidants supplementation. *Clinical Chemistry*, **51** :2138-2144.

### « B »

- Bagchi K & Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. (1998). *Eastern Mediterranean Health Journal*, **4** : 350-360.
- Baudin B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardio*. **2(1)**:43-52.
- Benlarbi F. (2004). Caractérisation des lipides et des phénols de quelques groupes d'oliviers d'Algérie. Mémoire de magister. Laboratoire des sciences fondamentales. Université de Laghouat. P : 70, 86, 88.
- Benzie I F F & Strain J J . (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay . *Analytical Biochemistry*, **239**: 70-76.
- Bhooshan Pandey K & Rizvi S I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease Landes Bioscience. *Medicine and Cellular Longevity*, **2(5)**: 270-278.
- Bijoy M ., Jayati S & Prabir K S. (2008). Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International*, **41** : 586–593.
- Borg J & Reeber A. (2008). Biochimie métabolique. Ellipses édition marketing S A. P : 257, 260, 263.
- Boubekri C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. thèse de Doctorat en sciences. Université d'El-Oued.
- Boucard M & Laubenheimer B. (1966). Action du nébulisat de fumeterre sur le débit biliaire du rat. *Thérapie* , **21**:903–11.
- Bouhadjra K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Brand-Williams W., Cuvelier M E & Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Science. Technologie*, **28** : 25–30.

- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris. P : 1067.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosy phytochemistry Medical plants. Lavoisier, 2<sup>ème</sup> édition. P : 242.
- Butler LG., Price M L & Brotherton J E. (1982). Vanillin assay for proanthocyanins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. *Jornal of Agricultural and Food Chemestry* , **30**:1087–1089.

« C »

- Cole G M., Lim G P., Yang F., Teter B., Begum, A., Ma Q., Harris-White M E & Frautschy S A. (2005). Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and phenolic anti-oxidant interventions. *Neurobioogy of Aging*, **26 (1)** : 133-136.
- Coyle J T & Puttfarcken P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Sci.* 262: 689-695.
- Coyle JT & Puttfarcken P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* ,**262**: 689-695.

« D »

- D'Archivio M ., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C & Masella R. (2007)..Polyphenols, dietary sources and bioavailability Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari.*Istituto Superiore di Sanità*, **43(4)**: 348-361.
- Dai J & Mumper R J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, **15**: 7313-7352.
- Dawidowicz A ., wianwoska D & Baramiak B. (2006).the antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigru* .L(antioxidant properties of extracts) . *Food Science and Technology*, (**39**): 308-315.
- De Pooter H L & Schamp N. (1986). Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. Edition E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. P: 139,150.
- Debuigne g & Couplan f. (2009). Pettit larousse des plantes médicinales. Edition larousse. P 82.
- Delattre J., Beaudoux J L & Bonnefont R D. (2005). Radicaux libres et stress bxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC editions medicales internationales, Paris. P : 1, 87,108, 405.
- Dellile L .2007. les plantes médicinales d'algérie.Edition Berti, Alger. P : 120, 121.
- Devasagayam TPA., Bloor KK & Ramsarma T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian Jornal of Biochemistry and Biophysics*, **40**:300-308.
- Dewick PM. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. *National Product Reports*, **12**: 579-607.

« E »

- El Gharras H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, **44(12)**: 2512-2518.

« F »

- Favier A. (2003). Inter& conceptual et experimental dans la comprehension des mecanismes des maladies et potentiel therapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 - 115.
- Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales de Biologie Clinique*, **64(6)** : 390-396.
- Frankel E N & Meyer A S. (2000). The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Jornal of the Science of Food and Agriculture*, **80**: 1925-1940.

« G »

- Ghani H N. (1921). *Khazainul Adviya*. Idara Kitab-ul-Shifa. Darya Ganj, New Delhi. P: 94, 95.
- Goetz P K & Ghedira R. *Fumaria officinalis L. (Fumariaceae)*. (2009). *Le Jeune Phytothérapie*, **7**: 221–225.
- Gülçin L ., Oktay M E., Kireççi E & Küfrevioğlu Ö İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food Chemistry*, **83** : 371.
- Guo L., Xie M Y., Yan AP., Wan Y Q & Wu Y M. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **386(6)**: 1881-1887.

« H »

- Halliwell B. (1997). Antioxidants and human diseases: a general introduction. *Nutrition Journal*, **55**: 44-52.
- Halliwell B & Aruoma OI. (1993). DNA and Free Radicals. Boca Raton Press.
- Halliwell B & Gutteridge JMC. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals, and disease. *Biochemistry Journal*, 219: 1-4.
- Halliwell B & Gutteridge J M C. (1989). Free radicals in biology and medicine. 2nd edition, *Clarendon Press*.
- Han X., Shen T & Lou H., (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, **8** : 950–988.
- Herbette S., Roeckel-Drevet P & Drevet J R. (2007). Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS Journal*, **274** :2163-2180.

- Hoffmann L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B & Legrand M. (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *The Plant cell journal*, **16** (6) : 1446-1465.

« K »

- Kablan B J., Adiko M & Abrogoua A. (2008). Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophthalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, **06**: 282–288.
- Kahkonen M P., Hopia A I., Vuorela H J ., Rauha J P., Pihlaja K., Kujala T S & Heinonen M.(1999). Antioxidant Activity of Plant Extract Containing Phenolic Compounds *Jornal of Agricultural and Food Chemistry*, **47** : 3954-3962.
- Kamra D N., Agarwal N & Chaudhary I C. (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, **1293**: 156–163.
- Karim N. (1880). *Tarjuma Makhzanul Advia*. Matba Munshi Nawal,Kishore .P : 681.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T & Jukic M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. **94** : 550–557.
- Khadhri A., El mokni R & Smiti S. (2013). composés phenoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon a glu: *Atractylis gummifera*. *Revue Social Science National*, **39** : 44-52.
- Knaggs, AR. (2003).The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, **20** : 119–36.
- Kroyer G & Hegedus N. (2001).Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* , **2(3)**:171-174.

« L »

- La maison J L C., & Carnet A. (1990). Teneurs en Principaux Flavonoides des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poiret D. C) en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, **65** :315-320.
- Leclerc H. (1983).Précis de phytothérapie.Edition Masson,paris.P : 141.
- Lessage-Messen L., Navarro D.,Maunier S.,Sigoiot J C.,Lorquin J.,Delattre M.,Simon J L.,Asher M & Labat M. (2001).Simple phenolic content in olive oil residue as a function of extraction systems. *Food Chemistry*,**75** :501-507.
- Lombardi S R. (1951). *Credeenze popolari calabresi Napoli*: Edizioni De Simone. P : 355.

« M »

- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C & Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Jornal of Clinical Nutrition*, **79** : 727-747.

- Mates J M., Perez-Gomez C & De Castro I N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, **32** : 595–603.
- Mc Donald S., Prenzler P D ., Antolovich M & Robards K.(2001).Phenolic content and antioxydant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, **73** :73-84.
- Miller N J., Rice-Evans C., Davies M J., Gopinathan V & Milner A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, **84**: 407–412.
- Mir Heidari H. (1993) Encyclopedia of medicinal plants of Iran. Islamic Culture Press. Tehran (in Persian).P: 96.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technologie*, **26**:211–219.

« N »

- Nagendrappa CG. (2005). An appreciation of free radical chemistry. *Free radicals in diseases and health, Resonance*, **10** :65-73.
- Nakajima K., Nakano T & Tanaka A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, **367** : 36-47.
- Niemenak N., Rohsius C., Elwers S., Ndoumou D O & Lieberei R. (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao L.*) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19(6-7)** : 612-619.

« O »

- Orhan, E.I., Sener, B., Musharraf, S.G. (2010). Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities. *Experimental and Toxicologic pathology*, **64 (3)**, 205-209.

« P »

- Păltinean R., Toiu A., Wauters J N., Frédérich M., Tits M., Angenot L., Tămaş M & Crişan G. (2016). Phytochemical analysis of *Fumaria officinalis L.* (*Fumariaceae*). *Farmacia*, **(64)**: 3-9.
- Pelletier E., Campbell P G C & Denizeau F. (2004). Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. Edition PUQ. P : 182.
- Pham-Huy LA., He H & Pham-Huy C. (2008). Free radicals,antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, **4** : 89-96.
- Price M L., Van S S & Butler L G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **26** :1214-1218.

- Prieto P., Pineda M & Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, **(269)**: 337-341.

« R »

- Rasmussen S E., Frederiksen H., Struntze Krogholm K & Poulsen L. (2005). Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Molecular Nutrition and Food Research*, **49** : 159-174.
- Re R ., Pellegrini N ., Proteggente A., Pannala A., Yang M & Rice-Evans C.(1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biologie and Medicine*, **26(9-10)**:1231-1237.
- Reynier M., Lagrange E & Godard F. (1977). Action du nebulisat de Fumeterre officinal sur la musculature lisse. [*Fumaria officinalis* spray action on smooth muscles.] *Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier*, **37(2)**:85–102.
- Ribéreau-Gayon, (1968). Composés phénoliques des végétaux. édition dunod. P :105-133.
- Ribéreau-Gayon P., Ribéreau-Gayon j ., peyraud e, sudraud p.(1982). Composés phénoliques. in traité d'œnologie, science techniques de vin. Edition dunod. P : 477-499.
- Richter G. (1993). Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed Presses Polytechniques et Universitaire Romandes. P : 322,323.
- Rira M. (2006). Effet des Polyphénols et des Tanins sur l'Activité Métabolique du Microbiote Ruminal d'Ovins. Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine.
- Rösen, P. (2004). Diabetes und oxidativer Stress. *Blickpunkt der Mann*, **2** : 23-30.
- Ryan D., Robards K & Lavee S. (1999). Changes in phenolic content of olive during maturation. *International Journal of Food Science and Technology*, **34** : 265–274.

« S »

- Saad A., Virella G & Chassereau Ch. (2006). OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *The Journal Of Lipid Research*, **47**:1975-1983.
- Salinas M J., Romero A T., Blanca G ., De la Herran R., Garrido-Ramos M., Ruis-Rejon C., Morales C., Ruis-Rejon M & Suarez V.(2003). Contribution to the taxonomie and phylogeny of Sarcocapons (DC). (Fumariaceae). *Plant systematic evolution*, **(237)** :153-164.
- Sanchez-Moreno C & Larrauri J A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Science and Technologie International*, **4**: 391-399.
- Sanchez-Moreno C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Science and Technologie International*, **8(3)**: 121-137.
- Sen S., Chakraborty R., De B & Mazumder J. (2009) Plants and phytochemicals for peptic ulcer: an overview, *Pharmacognosy Reviews*, **3** : 270-279.

- Shahidi F and Nacz M. (1951). Phenolics in Food and Nutraceuticals. Edition Taylor & Francis e-Library. P : 1.
- Sokol-Letowska A., Oszmiansk J & Wojdylo A. (2007). Antioxydant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*, **103**: 853-859.
- Sousek J., Guédon D., Adam T., Bochorakova H., Tabarska I., Valka I & Simanek V. (1999). Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*, **(10)**:6-11.
- Spencer JP., Abd El Mohsen MM., Minihane AM & Mathers JC.(2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research.*The British Journal of Nutrition*, **99**:12-22.
- Sun T & Ho C T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. (2005). *Food Chemistry*, **90**:743–749.
- Susplugas J., Massa V., Susplugas P., Taillade R., Susplugas G & Salabert J. (1975). Fumeterres en Languedoc Roussillon. *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, **32(2)** : 233-239.
- Swain J & Hillis W E. (1959). The Phenolic Constituents of *Prunus domestica*. I. The Quantitative Analysis of Phenolic Constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **10** : 63-68.

« T »

- Tangney C., Heather E & Rasmussen RD. (2013). Polyphenols, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Rush University Medical Center*, **15(5)**: 324.
- Taviano M F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Guvenc A., De-Pasquale R & Miceli N. (2013). *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and Chemical Toxicology*, **58**: 22-29.
- Torck M., Pinkas M & Bézanger-Beauquesne L. (1971). The flavone heterosides of the fumitory *Fumaria officinalis* L. *Ann. Pharm. Fr.* **29 (12)**: 591–596.
- Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Guelph Food Research Centre, Agriculture et Agri-Food Canada. Nutriments*, **2**: 1231-1246.

« U »

- Unten L., Koketsu M & Kim M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on  $\beta$ -carotene. *J. Agric. Food Chemistry*, **45 (6)**, P : 2009–2012.

« V »

- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MTD., Mazur M & Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39** :44–84.

- Valko M., Rhodes CJ., Moncola J., Izakovic M & Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160** : 1–40.
- Van acker S., Tromp M., Haenen G R M M., Van der vijgh W & Bast A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochemical Biophysical Research Communications*, **214 (3)** :755- 759.
- Vertuani S., Angusti A & Manfredini S. (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical. Design*, **10**:1677-1694.

« Y »

- Yildirim A., Mavi A & Kara AA. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **9**: 4083-4089.

« Z »

- Zino S., Skeaff M., Williams S & Mann J. (1997). Randomized controlled trial of effects of fruits and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *British Medical Journal*, **314**: 1787-1791.

# ANNEXES

## Annexes

### Annexe N°1 : Réactifs

**Tableau I:** Réactifs utilisés et leurs propriétés

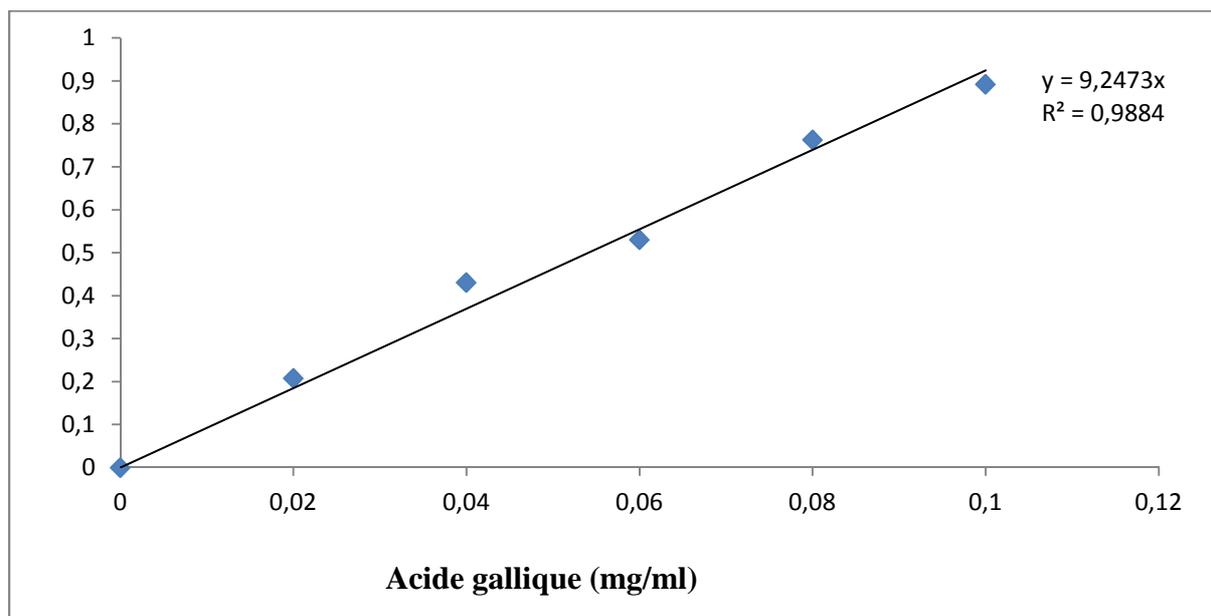
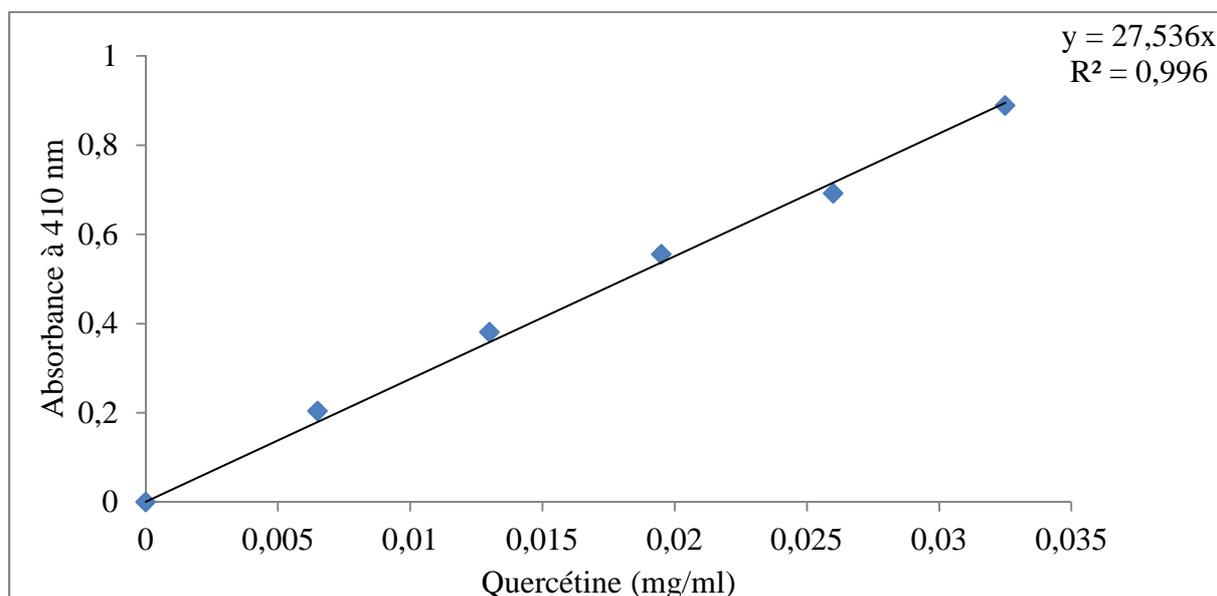
Produits	Propriété
Acéton ( $C_3H_6O$ )	M= 58,08 g/mol
Eau distillée ( $H_2O$ )	M=18 g /mol
Méthanol. ( $CH_3-OH$ )	M=32.04 g/mol, 99%
Ethanol ( $C_2H_6O$ )	M=46.068g/mol
Chloroforme ( $CHCl_3$ )	M=119.4, 99%
Acide trichloracétique ( $CCl_3COOH$ )	M=163.39
Potassium ferricyanate ( $K_3Fe(CN)_6$ )	M=329g/mol
Acide gallique monohydrate ( $C_7H_6O_5H_2O$ )	M=188.14
chlorure ferrique ( $FeCl_3$ )	M=162.21g/mol
Chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ )	M=241.43 g/mol
Acide ascorbique ( $C_6H_8O_6$ )	M=152g/mol
Solution de Folin.	d =1.22
BHA (Butyl Hydroxy Anisole) ( $C_{11}H_{16}O_2$ )	M=180.25g/mol
DPPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ )	M = 394.3g/mol
Quercitrine ( $C_{15}H_{10}O_7$ )	M=302 g/mol
Molybdate d'ammonium ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ )	M=1 163,9 g/mol
Acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ),	M=98,079 g/mol
phosphate de sodium ( $Na_3PO_4$ )	M=163,94 g/mol
Catéchine ( $C_{15}H_{14}O_6$ )	M=290,26 g/mol
Vanilline ( $C_8H_8O_3$ )	M=152,15 g/mol
$\beta$ -carotène ( $C_{40}H_{56}$ )	M=536,87 g/mol
Trolox ( $C_{18}H_{18}O_4$ )	M=250.2903g/mol

l'eau oxygénée (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	M=34,014g/mol
l'acide linoléique (C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> )	M=280,445g/mol
Poudre d'ABTS (C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub> )	M=514,62 g/mol
Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	M=105,98 g /mol
Persulfate de potassium(K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )	M=270,322 g/mol

## Annexe N°2 : Appareils

**Tableau II:** Appareils utilisés, leurs marques et caractéristiques

Appareils	Caractéristiques et marques
Rota-vapeur.	Heidolph Hei-VAP Value
Etuve.	Binder Venticell, Tmax=320°C
Balance électronique.	RADWAG, PS 600/C/2 max:600g min 0,02g
Spectrophotomètre ultraviolet-visible	Biotech engineering MANAGEMENT Co LTD (UK) vis-7220 G
Micropipette	De 5à 10ul, 20 à200 ul, 100à1000µl
Ph mètre	BOECO Germany BT -675
Bain marie	Raypa Thermostatic BATH
Tamiseur électrique	Retsch AS control "g"
Broyeur électrique	S Sayona
Plaque agitatrice	VELP Scientifica AM4 (rotation 1100)
centrifugeuse	Bench top low speed centrifuge (6000 rpm)
Agitateur électrique « vortex »	VELP Scientifica advanced vortex

**Annexe N°3 : courbe d'étalonnage du dosage des phénols totaux****Figure 1** : courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux**Annexe N°4 : Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes****Figure 2** : courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

## Annexe N°5 : Courbe d'étalonnage des tannins condensés

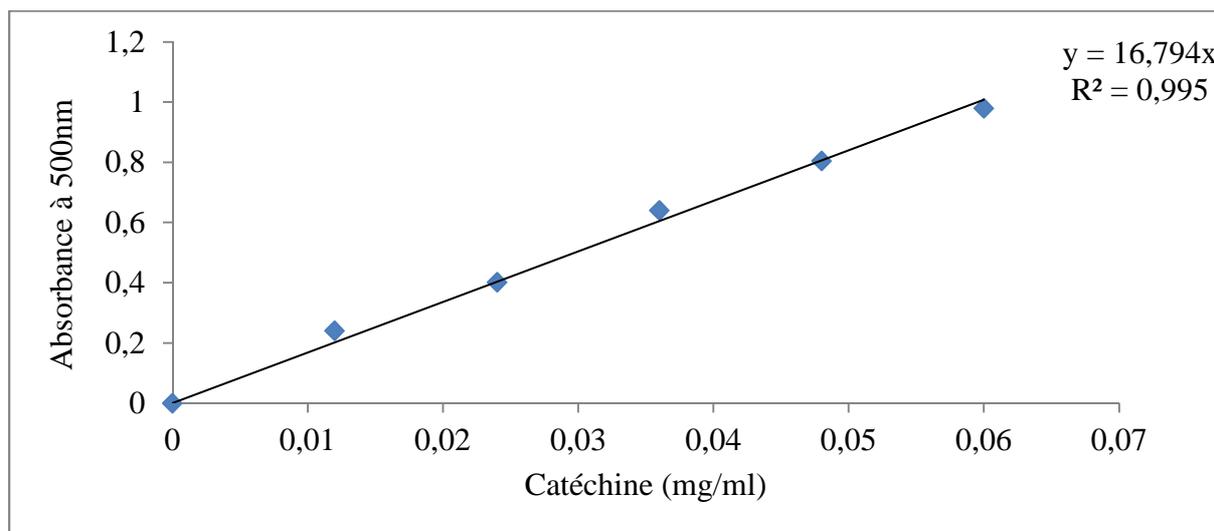


Figure 3 : courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins condensés

# GLOSSAIRE

## Glossaire botanique

**Alternes** : disposition isolée des organes spécialement des feuilles sur la tige

**Bisannuelle** : une plante qui vive deux années.

**Conifères** : Arbre du sous-embranchement des gymnospermes tel que les pins, sapins, épicéas, cèdres, mélèzes, cyprès, thuyas.

**Fagacée** : est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 900 espèces réparties en 7 à 9 genres, les plus connus étant : *Castanea Fagus Quercus* Ce sont des arbres ou des arbustes.

**Glaucques** : du grec [glaukos] (« vert pâle ») désigne une couleur claire qui fait partie du champ chromatique des verts grisés

**Grimpante** : Plante dont la tige s'élève en s'accrochant aux corps voisins (arbre, mur, échelas...).

**Herbacée** : toute plante vivace, qui n'a pas de tige ligneuse persistante au dessus du sol, ou dont l'aspect est de la nature de l'herbe verte par opposition à ce qui est ligneux.

**Herbicides** : est une substance ou préparation phytotoxique provoquant la mort des mauvaises herbes.

**Indéhiscence** : Qualifie un fruit qui ne s'ouvre pas à maturité par un mécanisme propre.

**Latex** : liquide laiteux élaboré par les tiges, les feuilles ou d'autres organes coupés des végétaux

**Mucilage** : Substance visqueuse extraite des végétaux (Algues) à base des glucides, les mucilages donnent de l'arabinose et du galactose.

**Pesticides** : une substance chimique utilisée pour lutter contre des organismes considérés comme nuisibles.

**Rosacée** : forment une famille de plantes dicotylédones qui sont des herbes, des arbrisseaux ou des arbres le plus souvent épineux, à feuilles pennées souvent alternes, rarement simples; donnant des fleurs parfumées blanches, roses, jaunes.

**Silicule** : chez les Brassicacées ce terme désigne un fruit sec, déhiscent à peine.

**Symbiose** : Association constante, obligatoire et spécifique entre deux organismes ne pouvant vivre l'un sans l'autre généralement entre un microorganisme et la plante.

**Rhizobiums** : Bactérie fixatrice d'azote atmosphérique vivant en symbiose sur les racines des légumineuses.

**Resvératrol** : est une substance naturelle que l'on trouve essentiellement dans le raisin et aussi les mûres, les cacahuètes, le cacao, la canneberge... Les vignes produisent cette molécule pour se protéger des champignons et des UV.

## **Glossaire médicale**

**Amphochloreutique** : Toute substance qui augmente la sécrétion biliaire quand celle-ci est trop faible.

**Anti sérotonine** : Médicament qui lutte contre le neurotransmetteur sérotonine.

**Antiasthmaticque** : Médicament utilisé contre l'asthme.

**Antihistaminique** : est un médicament qui inhibe les effets d'une molécule appelée histamine qui est sécrétée par l'organisme en cas de réaction allergique.

**Cardiodépressive** : Dépression cardiovasculaire ; dépression circulatoire : diminution des capacités circulatoires cardio-vasculaires avec diminution de la perfusion sanguine des organes.

**Cardiopathie ischémique** : est une pathologie qui affecte les artères coronaires. Elle se caractérise par une quantité de sang insuffisante transportée jusqu'au muscle cardiaque, le myocarde.

**Cardiotrope** : Médicament cardiovasculaire.

**Cellules spumeuses** : sont à l'origine du processus d'athérosclérose. L'accumulation de ces cellules dans la paroi forme la strie lipidique, étape initiale du processus inflammatoire qui va aboutir à la formation d'une plaque d'athérome au sein de la paroi artérielle.

**Conjonctivites** : est une inflammation de la conjonctive de l'œil d'origine virale, bactérienne, allergique ou consécutive à l'exposition à un produit chimique.

**Convulsions** : Contraction brusque et involontaire des muscles squelettiques s'accompagnant parfois de contractions des muscles lisses, qui peut être localisée à un ou plusieurs muscles ou généralisée à tout le corps.

**Diurétique** : une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

**Eczéma** : est une affection cutanée dont les symptômes sont : une inflammation, une desquamation de la peau, des rougeurs et l'apparition de phlyctènes.

**Folliculites** : C'est l'inflammation des follicules pilo-sébacés, elle est d'origine bactérienne, plus rarement mycosique (champignon).

**Insuffisance rénale chronique** : est une maladie grave qui entraîne une détérioration graduelle et irréversible de la capacité des reins à filtrer le sang.

**Laxative** : un produit accélérant le transit intestinal.

**Maladie d'Alzheimer** : une maladie neurodégénérative qui se caractérise par le développement d'une démence progressive.

**Myorelaxant** : médicament ayant pour effet de décontracter les muscles.

**Néphrite** : est une inflammation du rein.

**Neurodégénérative** : une pathologie qui affecte le cerveau ou globalement le système nerveux, entraînant la mort des cellules nerveuses.

**Parkinson** : est une maladie neurologique due à la dégénérescence des cellules nerveuses d'une zone, située à l'intérieur du cerveau.

**Peroxydation lipidique**: ou lipoperoxydation est l'oxydation des lipides insaturés, soit par des espèces radicalaires de l'oxygène, soit catalysée par des enzymes

**Polyarthrite rhumatoïde** : est une maladie inflammatoire des articulations.

**Psoriasis** : une maladie inflammatoire de la peau, il se caractérise généralement par l'apparition d'épaisses plaques de peau qui se détachent sous formes d'écailles blanches.

**Pyodermie** : est une maladie cutanée d'origine bactérienne

**Sclérose en plaques** : maladie inflammatoire, chronique et progressive du système nerveux central (cerveau et moelle épinière).

**Sclérose latérale amyotrophique** : est une maladie neurodégénérative d'origine inconnue qui détruit les neurones moteurs et entraîne une paralysie progressive des membres, des muscles nécessaires à la parole, à la déglutition puis à la respiration.

**Spasmolytique** : un médicament antispasmodique, c'est à dire destiné à soulager les spasmes musculaires.

**Syphilis** : une maladie infectieuse dangereuse, à déclaration obligatoire, très contagieuse, qui est présente à l'échelle mondiale. L'agent pathogène (la bactérie *Treponema pallidum*).

**Ulcère peptique** : est une lésion, située sur la muqueuse digestive qui est au contact avec les sécrétions acides gastriques, localisée à l'estomac.

**Urémie** : Présence d'urée dans le sang.

**Vermifuge** : Traitement médicamenteux qui tue les vers intestinaux, utilisé chez les humains et les animaux.

**Xénobiotiques** : molécules chimiques de synthèse étrangères à l'organisme et résistantes.

## Résumé

*Fumaria officinalis* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Fumariaceae* et utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses divers effets thérapeutiques. Cependant peu de travaux ont été cités dans la littérature concernant leur composition en polyphénols et leurs activités antioxydantes. C'est ce qui a suscité l'intérêt de cette étude basée sur le dosage des composés phénoliques et l'évaluation de leurs activité antioxydante *in vitro*, de cette plante récoltée dans la région d'Akbou en effectuant cinq tests à savoir; la capacité antioxydante totale, le pouvoir réducteur du fer, l'activité scavenger de DPPH<sup>·</sup> et d'ABTS<sup>·+</sup> et le test de blanchissement de β-carotène. Les résultats ont montré que le méthanol est le plus efficace pour l'extraction de ses composés qui sont majoritairement des flavonoïdes (plus de 70%) suivi par l'acétone et l'eau et que les trois extraits révèlent des activités antioxydantes dans tous les tests, cependant les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour l'extrait acétonique avec une absorbance maximale de 0,488±0,029 pour le test de la capacité antioxydante totale et 0,772±0,023 pour le test du pouvoir réducteur, des IC50 de 0,247±0,011mg/ml et 0,277±0,060mg/ml pour l'activité scavenger du DPPH<sup>·</sup> et d'ABTS<sup>·+</sup> respectivement. Par contre, pour le test de blanchissement de β-carotène on a enregistré la meilleure IC50 pour l'extrait méthanolique qui est de l'ordre de 0,309±0,009mg/ml. *Fumaria officinalis* est une plante riche en composés phénoliques notamment en flavonoïdes et présente une bonne activité antioxydante.

**Mots clés :** *Fumaria officinalis*, polyphénols; antioxydants; activité antioxydante, activité scavenger, pouvoir réducteur, capacité antioxydante, DPPH, ABTS<sup>·+</sup>, β-carotène.

## Abstract

*Fumaria officinalis* is a medicinal herb belonging to the family of *Fumariaceae*, used in traditional medicine for its various therapeutic effects. However, little is known on its polyphenol content and its antioxidant activity. This study is interested in the determination of the phenolic compounds of this plant collected in the region of Akbou and the evaluation of their antioxidant activity, *in vitro*, by carrying out five tests, total antioxidant capacity, iron reducing power, scavenger activity of DPPH<sup>·</sup> and ABTS<sup>·+</sup> and test of bleaching of β-carotene. The results show that the methanol is the most adequate for polyphenols extraction, which are mainly flavonoids (more than 70%), followed by acetone and water. It shows also that the three extracts present antioxidant activities in all the tests, however, the largest values are recorded in the acetone extract with a maximum absorbance of 0.488 ± 0.029 for the total antioxidant capacity test and 0.772 ± 0.023 for the reducing power test, IC50 of 0.247 ± mg / ml and 0.277 ± 0.060mg / ml were revealed for the scavenging activity of DPPH and ABTS respectively. On the other hand, for the bleaching test of β-carotene, the best IC50 was recorded in the methanol extract, which is 0.309 ± 0.009mg / ml. It is concluded that *Fumaria officinalis* is a plant rich in phenolic compounds and has a high antioxidant activity.

**Key words:** *Fumaria officinalis*, polyphenols; antioxidants; antioxidant activity, scavenging activity, reducing power, antioxidant capacity, DPPH, ABTS<sup>·+</sup>, β-carotene.

## ملخص

*Fumaria officinalis* (بقلة الملك) هي عشبة طبية تنتمي إلى عائلة *Fumariaceae* استخدمت في الطب التقليدي لآثارها العلاجية المختلفة. ومع ذلك لا يعرف إلا القليل عن محتواها في مركبات متعدد الفينول ونشاطها المضادة للأكسدة. هذه الدراسة مهمة بمعايرة المركبات الفينولية المحتواة في هذه النبتة التي تم جنيها في منطقة أقبو وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة في المختبر، عن طريق إجراء خمس تجارب وهي: إجمالي القدرة المضادة للأكسدة، قوة ارجاع الحديد، النشاط الكاسح لل DPPH<sup>·</sup> و ال ABTS<sup>·+</sup> واختبار تبييض ال β - كاروتين. أظهرت النتائج أن مستخلص الميثانول هو الأكثر فعالية لاستخراج المركبات الفينولية المتمثلة أساسا في الفلافونيدات (أكثر من 70%)، يليه الأستيون ثم المياه. كشفت النتائج أيضا عن نشاط مضاد للأكسدة في كل الاختبارات بالنسبة للمستخلصات الثلاث، ومع ذلك، فإن القيم الأكبر سجلت في مستخلص الأستيون مع امتصاصية قصوى 0.488 ± 0.029 لاختبار إجمالي القدرة المضادة للأكسدة و 0.772 ± 0.023 لاختبار قوة ارجاع الحديد، قيم IC50 مقدرة ب 0.247 ± 0.011 مغ/ مل و 0.277 ± 0.060 مغ/ مل للنشاط الكاسح لل DPPH<sup>·</sup> وال ABTS<sup>·+</sup> على التوالي لكن أفضل IC50 تم تسجيلها لاختبار تبييض ال β كاروتين كانت في مستخلص الميثانول بقيمة مقدرة ب 0.309 ± 0.009 مغ / مل. يستنتج من هذا العمل أن *Fumaria officinalis* نبات غني بمركبات الفينول، ولها نشاط عالي مضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية :** *Fumaria officinalis*، متعدد الفينول، مضاد الأكسدة، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الكاسح، قوة الارجاع، الطاقة المضادة للأكسدة، DPPH، ABTS، β-كاروتين.