

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABDERRAHMANE MIRA – Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

**Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de L'activité
Antioxydante de *Rhamnus alaternus L* et *Malva sylvestris L***

Présenté par :

Benidiri Sabrina & Benmammar Sonia

Devant le jury composé de :

M ^r S.Ouchemoukh	MCA (Université de Bejaia)	Président
M ^{me} H.Bakdi	Enseignante (Université de Bejaia)	Promotrice
M ^r A.Ghidouche	MCB (Université de Bejaia)	Examinateur

Année Universitaire : 2015 / 2016

REMERCIEMENTS

Avant tout, on tient à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au « Bon Dieu » de nous avoir donné la patience et la santé pour réaliser ce travail.

Ont tiens à remercier très sincèrement M^{me} BAKDI H., notre promotrice d'avoir accepté de nous encadrés, nous la remercions également pour sa disponibilité et pour son degré d'implication dans ce travail.

Nous remercions Monsieur le professeur OUCHEMOUKH S. d'avoir accepté de présider le jury chargé d'évaluer ce travail.

Nous tenons également à exprimer nos remerciement à M^r GHIDOUCHE A. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements spécifiques s'adressent à M^{elle} TABTI N. et M^r BOUCHENOUA F. de nous avoir accepté au sein de leurs laboratoires.

Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

DEDICACES

*C'EST AVEC UN TRES GRAND HONNEUR QUE
JE DEDIE CE TRAVAIL A MA MAIRE QUI
A SACRIFIEE POUR QUE JE GRANDISSE AVEC UN SAVOIR FAIRE
ET QUI A FAIT DE MOI CE QUE JE SUIS AUJOURD'HUI
QUE DIEUX LA PROTEGE ET L'ACCORDE UNE LONGUE VIE PLEINE
DE SANTE ET DE BONHEUR.*

*JE DEDIE AUSSI CETTE REALISATION A :
MES CHERS GRANDS PARENTS
MES TANTES ET MES ONLES ET LEURS ENFANTS
MES SOEURS ET MON FRERE UNIQUE
MES NEVEUX (ZAKARIA, OUSSAMA, ABD ARRAOUF, DAOUD ET SOHAIB)
ET MES NIECES (ROMAISSA, KENZA ET MERIEM)
Et A TOUTE MA FAMILLE ET MES AMIES
AINSI QUE MA CHERE AMIE SABRINA*

SONIA

DEDICACES

*C'EST AVEC UN TRES GRAND HONNEUR QUE
JE DEDIE CE TRAVAIL A MES PARENTS QUI
ONT SACRIFIES POUR QUE JE GRANDISSE AVEC UN SAVOIR FAIRE
ET QUI ONT FAIT DE MOI CE QUE JE SUIS AUJOURD'HUI
QUE DIEUX LES PROTEGES ET LES ACCORDE UNE LONGUE VIE PLEINE
DE SANTE ET DE BONHEUR .*

*JE DEDIE AUSSI CETTE REALISATION A :
MES CHERS GRANDS PARENTS
MES TANTES , MES ONCLES ET LEURS ENFANTS
MES SŒURS(HASSIBA,OUAHIBA ET NOURA)ET MES FRERES(SAMIR ET FATEH)
MES AMIES(SALIMA ,LOUIZA,OUARDA)
AINSI QUE MA CHERE AMIE SONIA*

SABRINA

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des annexes

INTRODUCTION.....	01
CHAPITRE I ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1.Les radicaux libres.....	02
I.1.1.Définition.....	02
I.1.2.Les espèces réactives de l’oxygène	02
I.1.2.1.Définition.....	02
I.1.2.2. Sources des espèces réactives d’oxygène.....	03
I.2.Stress oxydant.....	05
I.2.1.Définition.....	05
I.2.2.Origine.....	05
I.2.3.Les conséquences biochimiques de stress oxydatif	06
I.2.3.1.Oxydation des lipides.....	06
I.2.3.2.Oxydation des protéines.....	07
I.2.3.3. Oxydation de l’ADN	08
I.2.4.Les pathologies liées au stress oxydatif	09

I.2.4.1.Le vieillissement cellulaire.....	09
I.2.4.2.Le diabète	09
I.2.4.3.Athérosclérose	10
I.3.Les Antioxydants	11
I.3.1.Définition	11
I.3.2.Systèmes antioxydants enzymatiques	11
I.3.3.Systèmes antioxydants non enzymatiques	12
I.3.3.1.Les vitamines	12
I.3.3.2.Les oligo-éléments	13
I.3.3.3.Les composés phénoliques	13
I.3.3.4.Mécanisme d'action des polyphénols	15
I.4. <i>Rhamnus alaternus</i>	17
I.4.1.Description botanique	17
I.4.2.Noms Vernaculaires	18
I.4.3.Classification botanique	18
I.4.4.Composition chimique	18
I.4.5.Activités biologiques	19
I.5. <i>Malva sylvestris</i>	19
I.5.1.Description botanique	19
I.5.2.Noms Vernaculaires	20
I.5.3.Classification botanique	20
I.5.4.Composition chimique	20

I.5.5. Activités biologiques	21
------------------------------------	----

CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel.....	22
II.1.1. Matériel végétal.....	22
II.2. Méthodes	23
II.2.1. Préparation des extraits	23
II.2.2. Dosage des composés phénoliques	24
II.2.2.1. Dosage des phénols totaux	24
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes	25
II.2.3. Activité antioxydante des extraits	26
II.2.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH	26
II.2.3.2. Activité antiradicalaire à l'ABTS.....	27
II.2.3.3. La Réduction de Chlorure Ferrique	29
II.3. Etude statistique.....	30

CHAPITRE III RESULTAS ET DESCUSSION

III.1. Taux d'extraction	31
III.2. Dosage des antioxydants	32
III.2.1. Polyphénols totaux	32
III.2.2. Flavonoïdes	33
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante	35
III.3.1. Activité antiradicalaire DPPH	35
III.3.2. Activité antiradicalaire ABTS.....	38
III.3.3. Pouvoir réducteur	41

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	46
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 01	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène	04
Figure 02	Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant	05
Figure 03	Mécanisme en chaine de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux	07
Figure 04	Nature de quelque modification des chaines latérales d'acide aminé des protéines après attaque radicalaire	08
Figure 05	Lésions de l'ADN, l'attaque radicalaire	09
Figure 06	Effet complémentaire des trois enzymes antioxydants	12
Figure 07	Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 08	Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes	15
Figure 09	<i>Rhamnus alaternus L.</i>	17
Figure 10	<i>Malva sylvestris L.</i>	19
Figure 11	<i>R.alaternus</i> et <i>M.sylvestris</i> sous forme séchées et broyées	22
Figure 12	Schéma d'extraction de <i>M.Sylvestris</i> et <i>R.alaternus</i>	23
Figure 13	Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin- Ciocalteu	25
Figure 14	Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de (Bahorun et al .,1996)	26
Figure 15	Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH	27
Figure 16	Oxydation partielle de l'ABTS	28
Figure 17	Protocole d'étude de l'activité antioxydant de l'ABTS ⁺	28
Figure 18	Protocole d'étude du pouvoir réducteur	30
Figure 19	Le rendement d'extraction de <i>Rhamnus alaternus</i> et <i>Malva sylvestris</i>	31
Figure 20	Teneur en polyphénols de <i>Rhamnus alaternus</i> et <i>Malva sylvestris</i>	32
Figure 21	Teneur en flavonoïdes de <i>Rhamnus alaternus</i> et <i>Malva sylvestris</i>	34
Figure 22	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] en fonction de la concentration en acide Gallique et quercétine	35
Figure 23	Effets scaveger contre le radical DPPH [•] des trois phases de <i>Rhamnus alaternus</i> à différentes concentrations	36

Figure 24	Effets scavenger contre le radical DPPH des trois phases de <i>Malva sylvestris</i> à différentes concentrations	36
Figure 25	Histogramme représentant les CI50 pour les extraits des plantes, la quercétine et l'acide gallique	37
Figure 26	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS+ en fonction de la concentration en Trolox	39
Figure 27	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS.+ par les trois extraits de <i>R.alaternus</i> à différentes concentrations	39
Figure 28	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS + par les trois extraits de <i>M.sylvestris</i> à différentes concentrations	40
Figure 29	Histogramme représentant les CI50 pour les extraits <i>M.sylvestris</i> et <i>R.alaternus</i> et le trolox	41
Figure 30	Graphe représentant les absorbance à 700 nm de différente phase de <i>R.alaternus</i>	42
Figure 31	Graphe représentant les absorbances à 700 nm de différentes phases de <i>M.sylvestris</i>	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Page
Tableaux I	Les espèces réactives de l'oxygène	02
Tableaux II	Les noms vernaculaires de <i>R.alaternus</i>	17
Tableaux III	La classification botanique de <i>R.alaternus</i>	17
Tableaux IV	Les noms vernaculaires de <i>M.sylvestris</i>	19
Tableaux V	La classification botanique de <i>M.sylvestris</i>	19

LISTE DES ABREVIATIONS

A_B :	Absorbance du blanc
ABTS :	Sel d'ammonium de l'acide 2,2-azino bis-éthylbenzothiazolinesulfonique
A_E :	Absorbance de l'échantillon
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AG :	Acide gallique
AlCl₃ :	Chlorure d'aluminium
Al :	Aluminium
Aq :	Aqueux
A₀ :	Absorbance du contrôle (contenant l'ABTS+)
A₁ :	Absorbance du l'extrait + ABTS
A_T :	Absorbance du control
ATP :	Adénosine triphosphate
CAT :	Catalase
DPPH :	Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl
ext :	extrait
FeCl₃ :	Chlorure de fer
EOH :	Ethanol
ERO :	Espèce réactives de l'oxygène
Fe³⁺ :	Ions ferriques
Fe²⁺ :	Ions ferreux
GPX :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
GR :	Glutathion Réductase
H₂O :	Eau distillée
H₂O₂ :	Le peroxyde d'hydrogène
HO• :	Le radical hydroxyle
CI₅₀ :	Concentration inhibitrice 50%
K₂O₈S₂	Solution de persulfate de potassium
k₃Fe(CN)	Ferrocyanure de potassium
LDL :	low-density-lipoprotein cholesterol
L• :	Radical lipidique libre

LH :	Molécule lipidique
LOO• :	Radical peroxyde
LOOH :	Hydroperoxyde lipidique
<i>M. sylvestris</i>	<i>Malva sylvestris</i>
MeOH	Méthanol
mg E AG/g :	milligramme équivalent acide gallique par gramme
mg EQ /g :	milligramme équivalent quercétine par gramme
NADPH :	Nicotinamide-Adénine-Dinucleotide Phosphate
Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium
n-But :	n-butanolique
O₂ :	Oxygène
1O₂ :	Oxygène singulet
OH• :	Le radical hydroxyle
OH	Groupe hydroxyle
O₂^{•-} :	Anion Superoxyde
P₀ :	Poids vide de la boîte de pétri
P :	Poids après évaporation du solvant
<i>R. alaternus</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>
SOD :	Superoxyde dismutase
TCA :	Acide trichloroacétique
T° :	Température

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE	TITRE
Annexe 1	Représentation des principales classes des flavonoïdes
Annexe 2	Les deux grands groupes des tannins
Annexe 3	Structure chimique de quelques flavonoïdes de <i>R.alaternus</i>
Annexe 4	Structure chimique de quelques composés chimiques de <i>M.sylvestris</i> .
Annexe 5	Matériel et Réactifs utilisés
Annexe 6	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux
Annexe 7	La courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes
Annexe 8	Variation de l'inhibition du DPPH [·] de la quercétine
Annexe 9	Variation de l'inhibition du DPPH [·] de l'acide gallique
Annexe 10	Variation de l'inhibition du ABTS ^{·+} de Trolox
Annexe 11	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase éthanolique
Annexe 12	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase éthanolique
Annexe 13	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase n-butanolique
Annexe 14	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase n-butanolique
Annexe 15	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase aqueuse
Annexe 16	Variation de l'inhibition du DPPH [·] pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase aqueuse.
Annexe 17	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase éthanolique
Annexe 18	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase éthanolique
Annexe 19	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase n-butanolique
Annexe 20	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase n-butanolique
Annexe 21	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>R.alaternus</i> pour la phase aqueuse
Annexe 22	Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS ^{·+} pour les trois essais en fonction de la concentration de <i>M.sylvestris</i> pour la phase aqueuse

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines telle que le vieillissement, le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Favier, 2003**). Le stress oxydant est au centre de ces nombreuses pathologies par l'intermédiaire de la dénaturation de nos protéines, lipides, sucres et même de notre ADN.

l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques antioxydantes demeure une tâche très intéressante et utile (**Da Silva, 2004**), en particulier pour les plantes qui représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique.

La structure chimique de ces substances leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines, à inhiber le processus oxydatif (**Cowan, 1999**).

Rhamnus alaternus et *Malva sylvestris*, sont des plantes les plus utilisées en phytothérapie dans les pays de bassin méditerranéen. En Algérie ces plantes sont utilisées en générales pour le traitement des complications hépatiques et comme puissant antioxydants (**Berroukche, 2015 ; Hussain, 2014**).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de nos plantes en polyphénols et de déterminer leur activité antioxydante.

Pour cela notre étude englobe deux parties, dont :

- La première est une synthèse bibliographique de quelques rappels sur les radicaux libres, stress oxydatif, les antioxydants et les plantes étudiées.
- La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui porte sur l'extraction, dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, et flavonoïdes) de la partie aérienne de *R.alaternus L* et *M.sylvestris L*, et à l'évaluation de leur activité antioxydante in vitro vis-à-vis du radical libre DPPH[•], ABTS^{•+} et le fer ferrique.

CHAPITRE I
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. RADICAUX LIBRES**I.1.1.DEFINITION**

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur leur orbital externe (Valko *et al.* , 2007). Cet état lui confère une instabilité énergétique et cinétique qui le rend généralement capable de réagir avec d'autres molécules chimiques environnantes (Afonso *et al.* , 2007).

I.1.2.LES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE**I.1.2.1.DEFINITION**

L'oxygène est un élément indispensable à l'organisme aérobie et contribue en grande partie à la synthèse de l'énergie stockée sous forme d'ATP par le processus de la phosphorylation oxydative qui se réalise au niveau des mitochondries (Gutteridge ,1995).

En biologie les radicaux libres sont formés le plus souvent à partir de l'oxygène d'où leur appellations : les espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui désignent à la fois des espèces radicalaires de l'oxygène et des espèces non radicalaires (Boeck et Larcier, 2006).

Tableau I : Les espèces réactives d'oxygène.

ERO	Symbole chimique	Propriétés
L'anion Superoxyde	$O_2^{\cdot -}$	Radical formé par la réduction monoélectronique de l'oxygène, peu réactif mais toxique (Lee <i>et al.</i> , 2004).
Le radical hydroxyle	OH^{\cdot}	L'espèce radicalaire la plus réactive de l'oxygène, à une demi-vie extrêmement courte d'environ 10^{-9} s, capable de réagir très rapidement avec la plupart des biomolécules (ADN, protéines et lipides), (Bartosz, 2003).
L'oxygène singulet	1O_2	La forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Hadi, 2004).
Le peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	C'est une molécule non radicalaire, stable, présente une toxicité importante (Binove, 2001).

I.1.2.2. SOURCES DES ESPECES REACTIVES D'OXYGENE

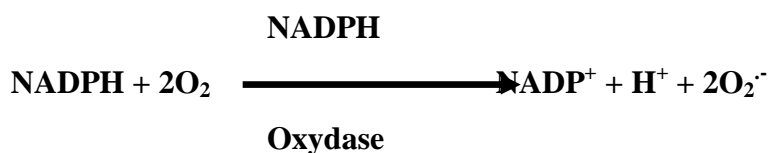
Les EROs sont produites dans l'organisme par de nombreux mécanismes tant endogènes qu'exogènes.

❖ SOURCE ENDOGENE**• LA MITOCHONDRIE**

La chaîne respiratoire mitochondriale constitue la source principale de production de radicaux libre, et environ de 98 % de l'oxygène parvenant à l'intérieur de la mitochondrie est réduite pour former de l'eau par le cytochrome oxydase, mais le processus n'est toutefois pas parfait car une faible proportion de l'oxygène (2 à 5%) subit une réduction monoélectronique conduisant à la formation du radical Superoxyde (**Turrens , 2003**).

• LA NADPH OXYDASE

C'est une oxydase liée à la membrane plasmique des macrophages et des polynucléaires principalement, où elle joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire, dans la lutte contre les micro-organismes et la destruction du matériel phagocyté (**Droge ,2002**). Elle est capable d'utiliser l'oxygène moléculaire (O₂) pour produire de grandes quantités de l'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire (**fontaine et al ., 2002**).

**• XANTHINE OXYDASE**

Le système enzymatique xanthine / xanthine oxydase est également considéré comme une source biologique importante de radicaux superoxyde. En présence d'oxygène la xanthine oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, et de la Xanthine en acide urique et génère le radical O₂^{·-} et le H₂O₂ urique (**Marfak , 2003**).



❖ SOURCE EXOGENE

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance aux EROs.

- Les Rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou gamma, soit en activant des molécules photo sensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets sont le résultat est produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (Favier, 2003).
- L'Alcool peut diminuer l'activité des enzymes de protection (SOD, GSH-Px) et l'ingestion de l'alcool est suivie de la formation des radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, avec production O_2^- . l'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase et du cytochrome P450 (Milane, 2004).
- La Pollution : Des molécules toxiques présentent dans notre environnement tel que le goudron, tabac, polluants industriels qui participent à la genèse des radicaux libres. Ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles Pulmonaires(pincemail,1998).

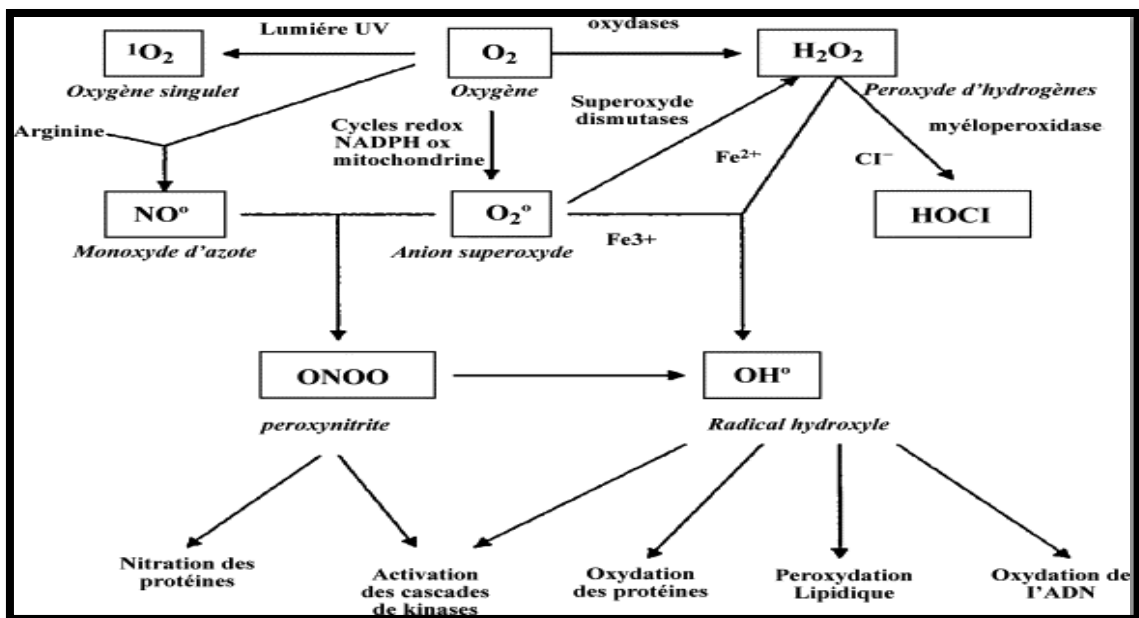


Figure 01 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

I.2.STRESS OXYDANT

I.2.1.DEFINITION

Dans les circonstances normales, les cellules des êtres aérobies produisent en permanence et en faible quantités des espèces réactives d’oxygène (EROs) à l’issu de nombreux processus cellulaires (**Favier, 2003**). Dans ces circonstances, les défenses antioxydantes sont capables de détruire les EROs produites pour maintenir leur flux cellulaire au niveau utile, on dit que la balance antioxydant/prooxydants est en équilibre (**Favier, 2003**).

Quand cet équilibre est rompu par déficit en antioxydant ou une surproduction incontrôlée d’espèces radicalaires et leurs dérivées secondaires, il survient un stress oxydant (**Helliwell ,2004**).

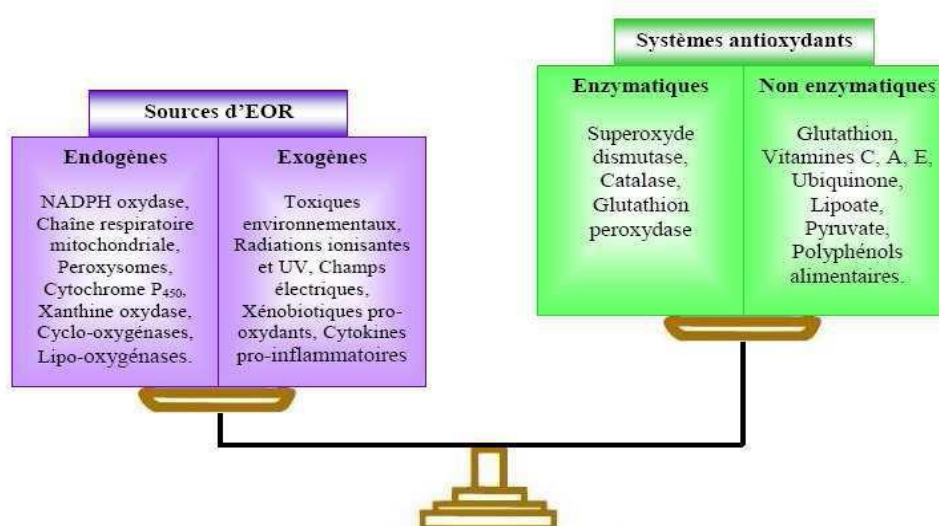


Figure 02: Déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant (**Nkhili, 2009**).

I.2.2.ORIGINE

Ce déséquilibre peut avoir de multiples origines. Elle peut provenir suite à une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou oligoéléments, ou d’une surproduction endogène des EROs et à l’exposition environnementale des facteurs prooxydants (**Favier ,1997**).

I.2.3.LES CONSEQUENCES BIOCHIMIQUES DE STRESS OXYDATIF

La production successive des radicaux libres provoque une action directe sur les molécules biologiques (lipides, protéines et ADN).

I.2.3.1. OXYDATION DES LIPIDES (PEROXYDATION LIPIDIQUE)

La peroxydation lipidique résulte des réactions oxydatives des radicaux libres avec les lipides, et plus particulièrement des acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables.

La lipoperoxydation se fait en trois phases :

- Phase d'initiation : la peroxydation lipidique est initiée par l'enlèvement d'un proton de la chaîne d'acides gras polyinsaturés, qui se fait par un radical libre, conduisant à la formation d'un radical lipidique (L[•]) , (**Deby-Dupont et al., 2002**).



- Phase de propagation : Le radical lipidique réagit avec O₂ pour former un radical peroxyde (LOO[•]), ce radical peut ensuite réagir avec d'autres molécules lipidiques (LH) pour former un hydroperoxyde lipidique (LOOH), un nouveau radical lipidique libre (L[•]) qui se forme et qui assure la propagation de la chaîne de peroxydation.



- Phase de terminaison : la dernière phase de la peroxydation consiste à la formation de molécule stable issue de l'association de deux espèces radicalaires (**Pasquier, 1995 ; Ricciardolo et al ., 2004**).



La peroxydation lipidique est considérée comme une des conséquences les plus vulnérables des attaques radicalaires. Elle est responsable des altérations cellulaires et diminution de la fluidité membranaire (**Davies, 2000**).

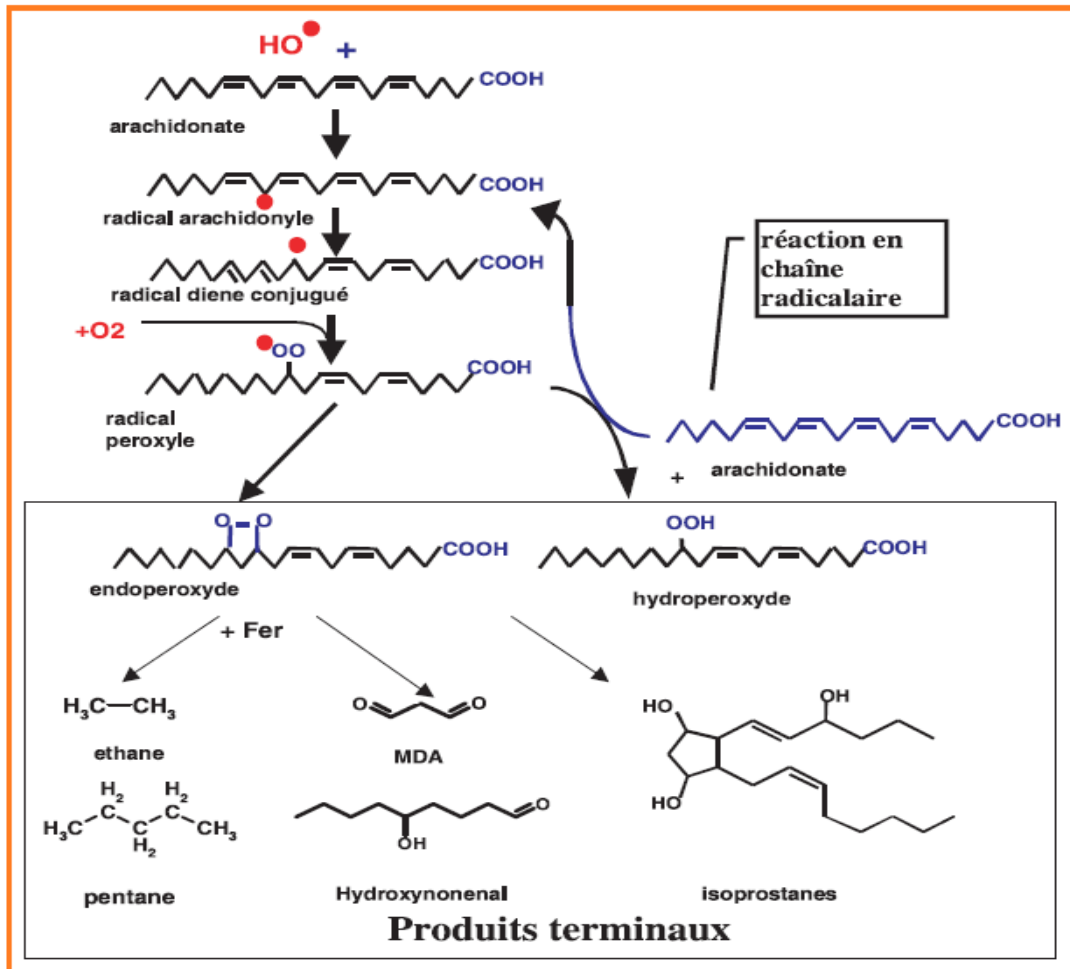


Figure 03 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux (Favier, 2003).

I.2.3.2.OXYDATION DES PROTEINES

Les protéines sont des constituants cellulaires structuraux, fonctionnels et essentiels qui peuvent subir des modifications oxydatives. L'oxydation des protéines et des acides aminés par les ERO aboutit à la formation des produits carbonylés et hydroxylés (Levine, 2002).

Dans les conditions physiologiques, les cibles majeurs sont les acides aminés : soufrés, basiques, et aromatiques. Les ERO les plus réactives vis-à-vis de ces acides aminés sont le radical hydroxyle ; capable de réagir avec chacun d'entre eux (bonnefont-Rousselot et al., 2005).

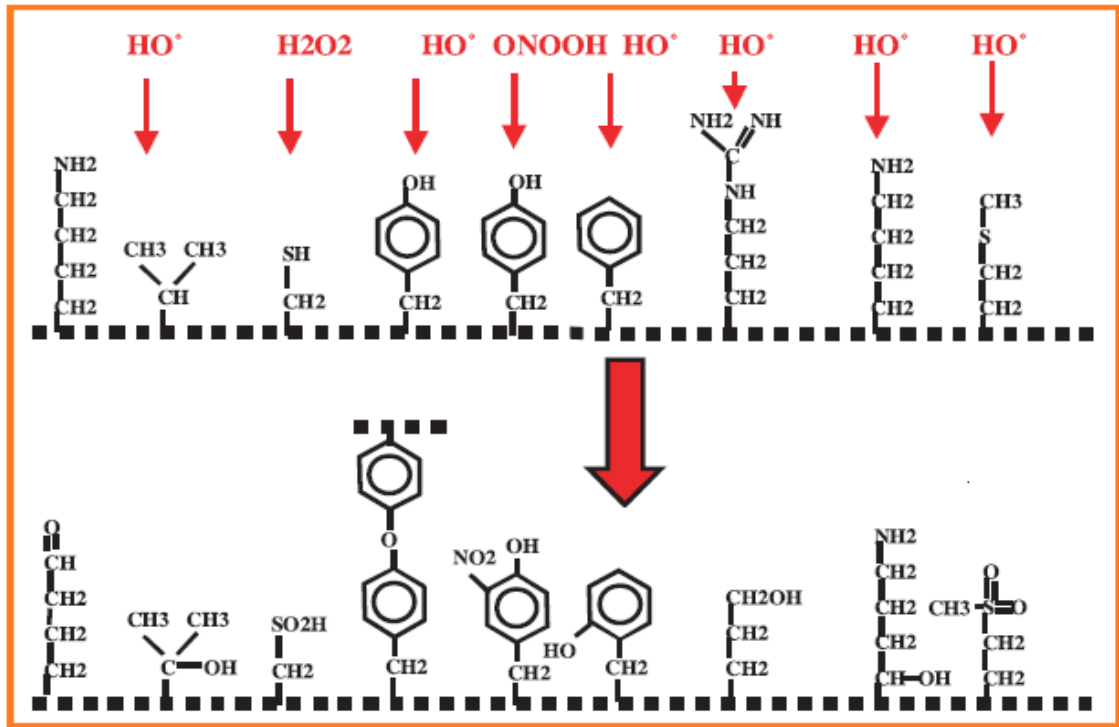


Figure 04 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

I.2.3.3. OXYDATION DE L'ADN

L'ADN est une molécule très sensible à l'attaque radicalaire, cinq classes principales de dommage oxydatif incités par des OH^\bullet peuvent être générées (Cadet et al., 2002) ; Parmi elles :

- L'attaque directe des bases puriques et pyrimidiques engendre un grand nombre des bases modifiées, particulièrement la guanine qui est transformée en 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG).
- La formation d'un site abasique non fonctionnel suite à l'attaque de la liaison entre la base et le désoxyribose.
- L'oxydation du désoxyribose provoque une coupure de chaîne simple brin.
- L'agression radicalaire des protéines (histones), qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger ou pour le lire (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraîne des pontages des protéines.
- La création d'adduits avec des dérivés de la peroxydation lipidique, tel que le malonaldehyde-guanine.

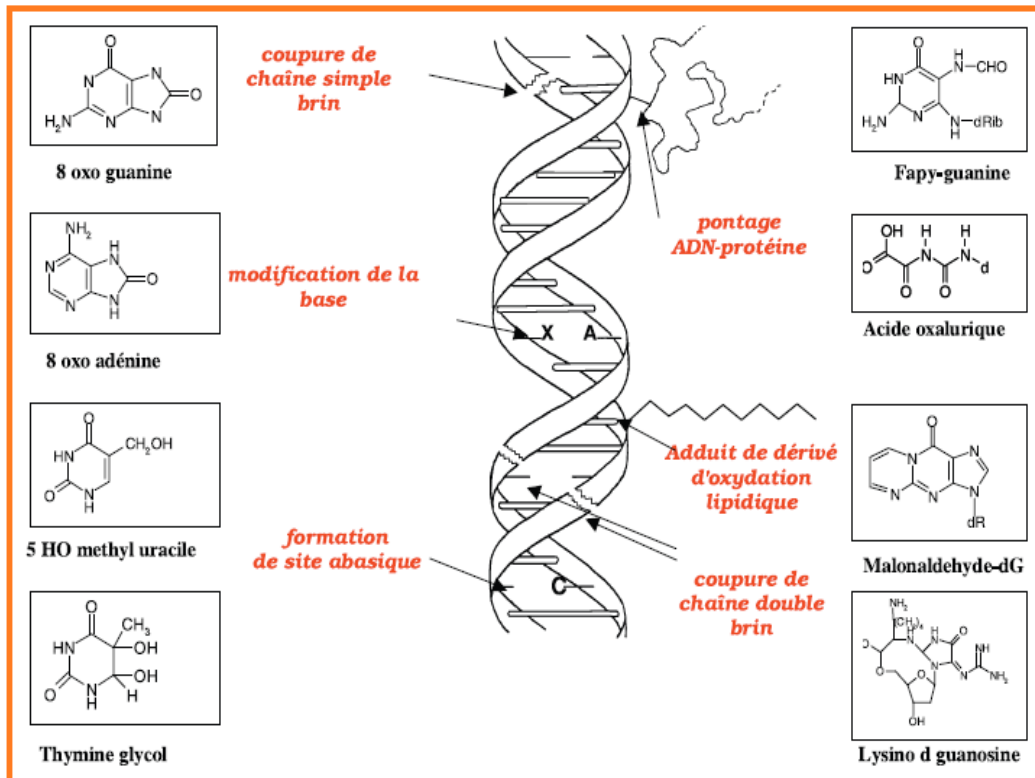


Figure 05 : Lésions de l'ADN, l'attaque radicalaire (Favier, 2003).

I.2.4. LES PATHOLOGIES LIEES AU STRESS OXYDATIF

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies :

I.2.4.1 LE VIEILLISSEMENT CELLULAIRE

La théorie radicalaire du vieillissement explique que les phénomènes de dégénérescence liés au vieillissement sont dus à l'accumulation d'éléments oxydés et à leurs conséquences sur l'organisme comme la peroxydation lipidique ou la carbonylation des protéines. Ainsi, plus l'âge augmente, plus les attaques radicalaires sur les différentes cibles biologiques seront importantes (Harman, 1956).

I.2.4.2. LE DIABETE

Le diabète se traduit par une augmentation du glucose qui va entraîner l'activation de différentes voies dont la formation de produits de glycation avancés qui aboutissent à un stress oxydant à long terme. Les défenses antioxydantes sont diminuées et les réactions pro-

oxydantes augmentées (production d'espèces réactives de l'oxygène, oxydation des lipides...). Cela va induire une destruction des cellules bêta du pancréas, cellules sécrétrices d'insuline, ainsi qu'une altération de l'action de l'insuline qui vont provoquer une augmentation de glucose et donc du diabète (**Valko et al ., 2007**).

I.2.4.3.ATHEROSCLEROSE

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique multifactorielle qui se caractérise par un épaissement de la paroi des artères au niveau de l'intima.

Il est actuellement admis que l'athérosclérose est liée à la peroxydation des LDL qui conduit à la genèse de la plaque athéromateuse. En effet, ces LDL oxydées sont à l'origine de la transformation des macrophages en cellules spumeuses qui constituent les "stries lipidiques" et induisent la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses dans l'intima qui évolueront en plaques athéromateuses surmontées par une couche fibrocellulaire dense (**Stentz, 2004**).

I. 3. LES ANTIOXYDANTS

I.3.1.DEFINITION

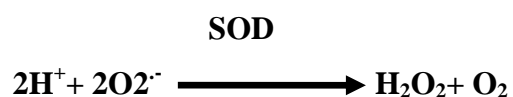
Un antioxydant peut être défini comme étant une substance qui présente à des faibles concentrations par rapport à un substrat, peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat (**Favier, 2003**).

Ces antioxydants peuvent être de deux natures différentes : des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques (**Leverve, 2009**).

I.3.2.SYSTEMES ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES

- **LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)**

Les superoxydes dismutases sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des ions Superoxyde en oxygènes moléculaire et peroxyde d'hydrogène, composés stables et moins toxiques (**Frank et al., 2002**).



- **LA CATALASE (CAT)**

Est une enzyme à hème qui réduit le peroxyde d'hydrogène en libérant l'oxygène et l'eau, elle est localisée surtout dans les peroxysomes et les hématies (**Valko et al ., 2006**).



- **GLUTATHION PEROXYDASE (GPX) ET REDUCTASE (GR)**

La glutathion peroxydase est une enzyme qui assure la décomposition du peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau et des hydroperoxyde organiques (ROOH) en alcool en utilisant le glutathion réduit comme donneur d'hydrogène . Elle est constitué de quatre sous-unités contenant chacune un résidu sélénocystéine qui constitué le site actif de l'enzyme. Elle se situe principalement dans le cytosol et les mitochondries (**El Abed et al., 2009**).

Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH, H.il est important d'indiquer que la lutte contre les radicaux

libres passe par un effet complémentaire des SODs, CAT, GPX et GR selon la figure suivante :

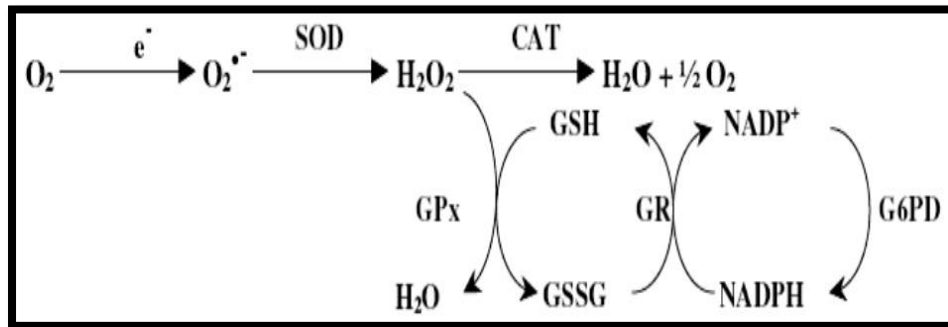


Figure 06 : Effet complémentaire des trois enzymes antioxydantes (Beaudeau et al., 2006).

I.3.3.SYSTEMES ANTIOXYDANT NON ENZYMATIQUES

I.3.3.1.LES VITAMINES

▪ VITAMINE C (OU ACIDE ASCORBIQUE)

Est une vitamine hydrosoluble, réducteur présente dans les fluides intra et extracellulaires, est un piègeur très efficace des ions superoxyde, du peroxyde d'hydrogène, et de l'oxygène singulet.

Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux Peroxyde aqueux en piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique. la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (Delattre et al., 2005).

▪ VITAMINE E (α -TOCOPHEROL)

Est une vitamine liposoluble, elle intervienne directement au niveau des membranes biologiques et inhibe ainsi la propagation de la peroxydation et assurer le maintien de l'intégrité et la stabilité membranaire (Khalil, 2002).

▪ VITAMINE A (β -CAROTENE)

Est une molécule hydrosoluble joue un rôle dans l'inactivation de l'oxygène singulet du fait qu'elle permet la désexcitation de l'oxygène.

La β -carotène peut également réagit avec le radical peroxyde et inhiber la peroxydation lipidique (Costantini et Moller, 2008).

I.3.3.2.LES OLIGO-ELEMENTS

▪ LE CUIVRE

Est un oligo-élément indispensable, essentiel dans de nombreuses réactions enzymatiques et dans la synthèse de neurotransmetteurs.

Il possède des propriétés antioxydantes, il catalyse la transformation des ERO via la réaction d'Haber-Weiss-Fenton (**Jomova et al ., 2011**).

▪ LE SELENIUM

Est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire (**Wolters et al., 2005**).

▪ LE ZINC

Est un cofacteur de CAT et SOD, il protège également les groupements thiols des protéines, peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénés induite par le fer ou le cuivre (**Mezzetti et al ., 1998**).

I.3.3.3.LES COMPOSES PHENOLIQUES

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandue dans le règne végétal, sont très réactifs comprenant au moins un noyau benzoïque portant un ou plusieurs groupes hydroxyles et d'autre constituants .Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques parmi lesquelles on distingue les flavonoïdes, tanins et acides phénoliques (**Ballasundram et al ., 2007**).

Les composés phénoliques présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines ,tige , feuilles , fleurs , pollens , fruits , graines et bois) , ils sont contribuent au développement de la plante (croissance cellulaire, reproduction , différenciation ; floraison).

Ce sont des éléments importants de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie pour leurs divers effets pharmacologiques (**Xu et al ., 2007**).

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs groupes principaux qui se distinguent par le nombre et l'arrangement des atomes, la nature du squelette carboné et la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (**Mamoudo et al ., 2006**).

▪ ACIDES PHENOLIQUES

Ce sont des composés possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol, représentés par deux groupes essentiels: les acides hydroxybenzoïques et les acides Hydroxycinnamiques.

Ces acides abondant dans les aliments se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire (Manach *et al.* , 2004).

▪ FLAVONOÏDES

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols et dont la structure comprend deux noyaux aromatiques et un hétérocycle oxygéné de structure C6-C3-C6. Ils sont considérés comme pigments quasiment universels des végétaux (Rice-Evans *et al.* , 1996).

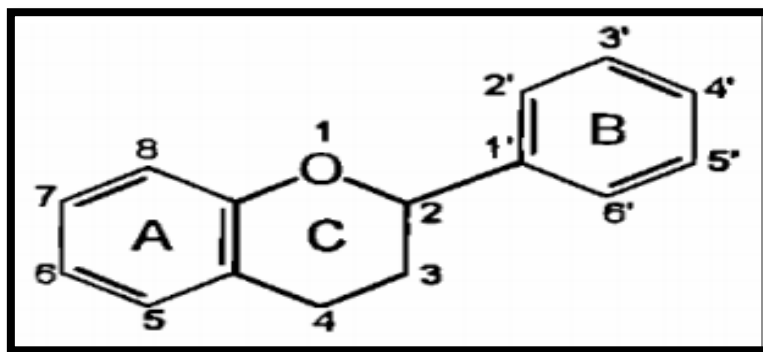


Figure 07 : Structure de base des flavonoïdes (Krishna *et al.* , 2001).

▪ LES TANNINS

Ce sont des substances naturelles ayant un poids moléculaire relativement élevé qui ont la capacité de se complexer fortement aux glucides et aux protéines. Les tannins résultent de la polymérisation de molécules élémentaires à fonction phénol.

On distingue classiquement deux grands groupes de tannins : les tannins condensés et les tannins hydrolysables (Galvez *et al.* , 1997 ; Alais *et al.* , 2008).

I.3.3.4. MECANISME D'ACTION DES POLYPHENOLS

Les composés phénoliques agissent comme donneurs de protons ou d'électrons, comme chélateurs de métaux de transition (Márquez-García *et al.*, 2009), et comme inhibiteurs d'enzymes génératrices de radicaux libres et inducteurs de la synthèse d'enzyme antioxydantes (Hennebelle *et al.*, 2004).

L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de Polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Macheix *et al.*, 2005).

▪ CHELATION DES METAUX

Les composés phénoliques inhibent la formation de radicaux libres par la chélation des métaux tels que : le Cuivre, le Fer et l'Aluminium. Ces ions métalliques renforcent les effets nocifs du stress oxydant, en stimulant la production des radicaux hydroxyles (OH[•]).

Ces composés en chélatant les ions métalliques, forment des complexes de coordination avec ces métaux, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir les ions métalliques en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Virgili *et al.*, 2001 ; Lee *et al.*, 2004).

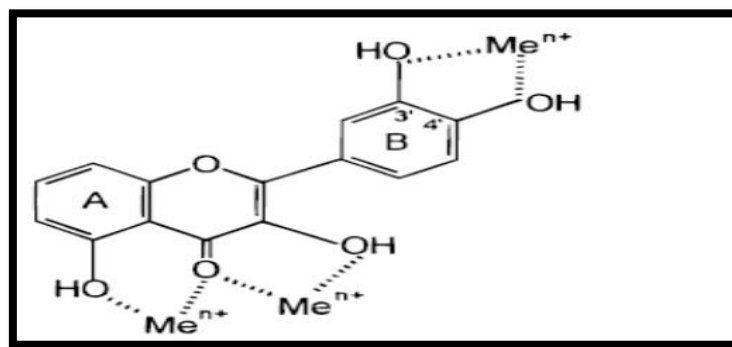


Figure 08: Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

▪ NEUTRALISATION DES RADICAUX LIBRES

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces de radicaux libres, et ceci grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif contre l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et l'oxygène singulet, selon la réaction suivante :



Les flavonoïdes préviennent la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux libres, qui sont susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH₂ situé entre deux n doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, et protègent ainsi les membranes cellulaires (Havsteen, 2002).

▪ **INHIBITION D'ENZYMES**

Les composés phénoliques affectent l'activité de nombreux systèmes enzymatiques impliqués dans le stress oxydant. Certains flavonoïdes comme l'apigénine, la quercétine et la myricétine inhibent la xanthine oxydase, qui est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique (Nijveldt *et al.*, 2001 ; Da silva *et al.*, 2004).

I.4.RHAMNUS ALATERNUS**I.4.1.DESCRPTION BOTANIQUE**

Rhamnus alaternus connu sous le nom commun nerprun alaterne est un arbrisseau appartient à la famille des rhamnacées pouvant atteindre jusqu'à 5m, sa croissance est lente mais sa longévité est étonnante (100ans), d'origine méditerranéennes (**Akerreta et al ., 2009**).

Les rameaux sont alternes glabres et non épineux, ses feuilles sont ovales lancéolées et ont les bords légèrement dentés. Ses fleurs jaunâtre sont très petites et dépourvues de pétales ; poussent à l'aisselle des feuilles et groupées en bouquet. Ses fruits apparaissant en octobre-novembre. Ce sont des petites baies d'abord rouges puis noires (**ChemliR, Dahmen M, Khaldi A et al ., 2006**).



Figure 09 : *Rhamnus alatrnus L.*(Rameau et al., 2008).

I.4.2. NOMS VERNACULAIRES

Les noms vernaculaire de nerprun sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau II : Les noms vernaculaires de *Rhamnus alaternus*.

	Noms (Référence)
Noms communs	Nerprun , boyrge épine (Barda,2004)
Nomsterguis et kabyles	Ajroudj , Khalis n'imidekh , Amliles (Beloued , 2001)
Noms arabe	Mliles(Belouad2001) , Ouchbat el safar (Saidet al .; 2002) ; Oued el khir (Beloued , 2001)
Noms francais	Alaterne(Beloued,2001) ,Nerprun Méditerranéen (Izhaki et al., 2002)
Noms Anglais	Italien Buckthorn. (Anonym , 2008)

I.4.3.CLASSIFICATION BOTANIQUE

Tableau III: Classification de *Rhamnus alaternus* (**Mobile Référence., 2008**).

Régne	Végétale
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Famille	Rhamnaceae
Genre	Reyonisa
Sous Genre	Rhamnus
Espèce	<i>Rhamnus alaternus L</i>

I.4.4.COMPOSITION CHIMIQUE

La partie aérienne et les racines de *R. alaternus* ont révélés La présence de diverses quantités d'antraquinones telles que l'émodyne ou chrysophanol, de coumarines, de tannins et en particulier des flavonoïdes.

Trois flavonoïdes tri-glycosidiques ont été isolés à partir des feuilles de *R. alaternus*, le Kaempferol 3-O- β -isorhamninoside, rhamnocitrin 3-O- β -isorhamninoside et le rhamnetin-3-O- β -isorhamninoside, en revanche, trois flavonoïdes aglycones ont été identifiés : l'apigénine, le kaempferol et la quercétine (**BenAmmar et al., 2009**).

I.4.5. ACTIVITES BIOLOGIQUE

En médecine traditionnelle *R. alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (**Bhouri et al ., 2012**), ainsi que les problèmes cardiovasculaires (**Calvo et Cavero, 2014**), contre la jaunisse et l'anémie (**Beloued, 2001**).

Des études antérieures ont montrés que l'extrait brut de rhamnus alaternus est un puissant antioxydant, antimutagène (**Ben Ammar et al ., 2008**) et antimicrobien (**kosalec et al .,2013**).

I.5. MALVA SYLVESTRIS

I.5.1.DESCRPTION BOTANIQUE

M.sylvestris est une plante herbacée bisannuelle de la famille des Malvacées à tige dressée, d'environ 1,5 m de haut. Elle pousse spontanément dans les talus, décombres, les remblais, les friches et aux bords des chemins.

Ces feuilles sont formées de 3 à 7 lobes, sont dentées et dotées d'un long pétiole. Les fleurs, réunies par 2 ou 3, sont de couleur rose violacé veiné de noir, elles sont relativement grandes et leurs pétales sont échancrés. Le fruit de la mauve sylvestre est formé de nombreux akènes rangés en cercle (**Flore, 2011**).



Figure 10 : *Malva sylvestris* L. (Ghédira et Goetz, 2016)

I.5.2.NOMS VERNACULAIRES

Tableau IV : Les noms vernaculaires de *Malva sylvestris*.

	Noms
Nom commun	Mauve (Flore, 2011)
Nom kabyle	Amedjir
Noms arabe	Khoubeiza (Ghédira et Goetz , 2016)
Noms français	Mauve ,Grande Mauve , Mauve Des Bois (Flore, 2011)
Noms anglais	Mallow , High Mallow (Flore, 2011)

I.5.3.CLASSIFICATION BOTANIQUE

Tableau V : la classification botanique de *Malva sylvestris L* (Ghédira et Goetz , 2016)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Malvales
Famille	Malvacées
Genre	<i>Malva</i>
Espèce	<i>Malva sylvestris L</i>

I.5.4.COMPOSITION CHIMIQUE

Les principaux composants sont :

- Mucilage qui donne la naissance après hydrolyse à plusieurs molécules, aux propriétés émoullientes et pectorales, ils sont généralement présents dans le tégument externe des graines et jouent un rôle important dans le processus de germination.
- Des Flavonoïdes (fleurs et feuilles), Tanins (feuilles), Anthocyanosides et anthocyanidines contenus dans les fleurs.

- D'autres éléments tels que le calcium, phosphore, fer, potassium, magnésium et des vitamines A, B1, B2, PP et C qui sont contenus dans les jeunes feuilles de la mauve (**Razavi ,2011**).

I.5.5.ACTIVITES BIOLOGIQUES

Toutes les parties de la mauve sont susceptibles d'être utilisées en phytothérapie (feuilles, fleurs et racines).

La mauve est employée comme un excellent laxatif pour les enfants et comme antipoison en cas d'absorption d'acide ou de base (**Flore, 2011**) , agent anti diabétique(**Akash et al., 2012**).Ainsi elle possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes (**Pirbalouti et al.,2009**), et joue un rôle antiulcéreux et hépatoprotecteur (**Razavi ,2011**).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL**II.1.1. MATERIEL VEGETAL****➤ RECOLTE ET SECHAGE**

Cette étude a été réalisée, sur la partie aérienne de *M.sylvestris* et *R.alaternus* qui ont été récoltées au période de floraison. La tige et les feuilles de *R.alaternus* ont été cueillies en janvier 2016 dans la région de taourirt allouache de la commune de Timezrit au niveau de Bejaia, tandis que la tige, feuilles et fleurs de *M.sylvestris* ont été récoltées en février 2016, dans un endroit naturel loin de la pollution situe dans la commune de Timezrit dans la wilaya de Bejaia. Après la récolte, les parties aériennes des deux plantes ont été lavées pour débarrasser les débris et toute sorte de poussières, puis elles ont été séchées à l'air libre pendant 15 jours et pour obtenir un meilleur broyage ont été complétées le séchage à l'étuve à 40C° durant 24 heures.

➤ BROYAGE ET TAMISAGE

Les parties séchées des deux plantes étudiées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre très fine. la poudre obtenue a été conservée dans des flacons et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation.



Figure 11: *R.alaternus* et *M.sylvestris* sous forme séchées et broyées.

II.2. METHODES

II.2.1. PREPARATION DES EXTRAITS

La méthode d'extraction suivie dans notre étude est l'extraction par macération effectuée selon le protocole de **Chiang et al. (1994)**, avec quelques modifications. Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénoliques en utilisant trois solvants de différentes polarités : éthanol, n-butanol, l'eau distillé selon le schéma suivant :

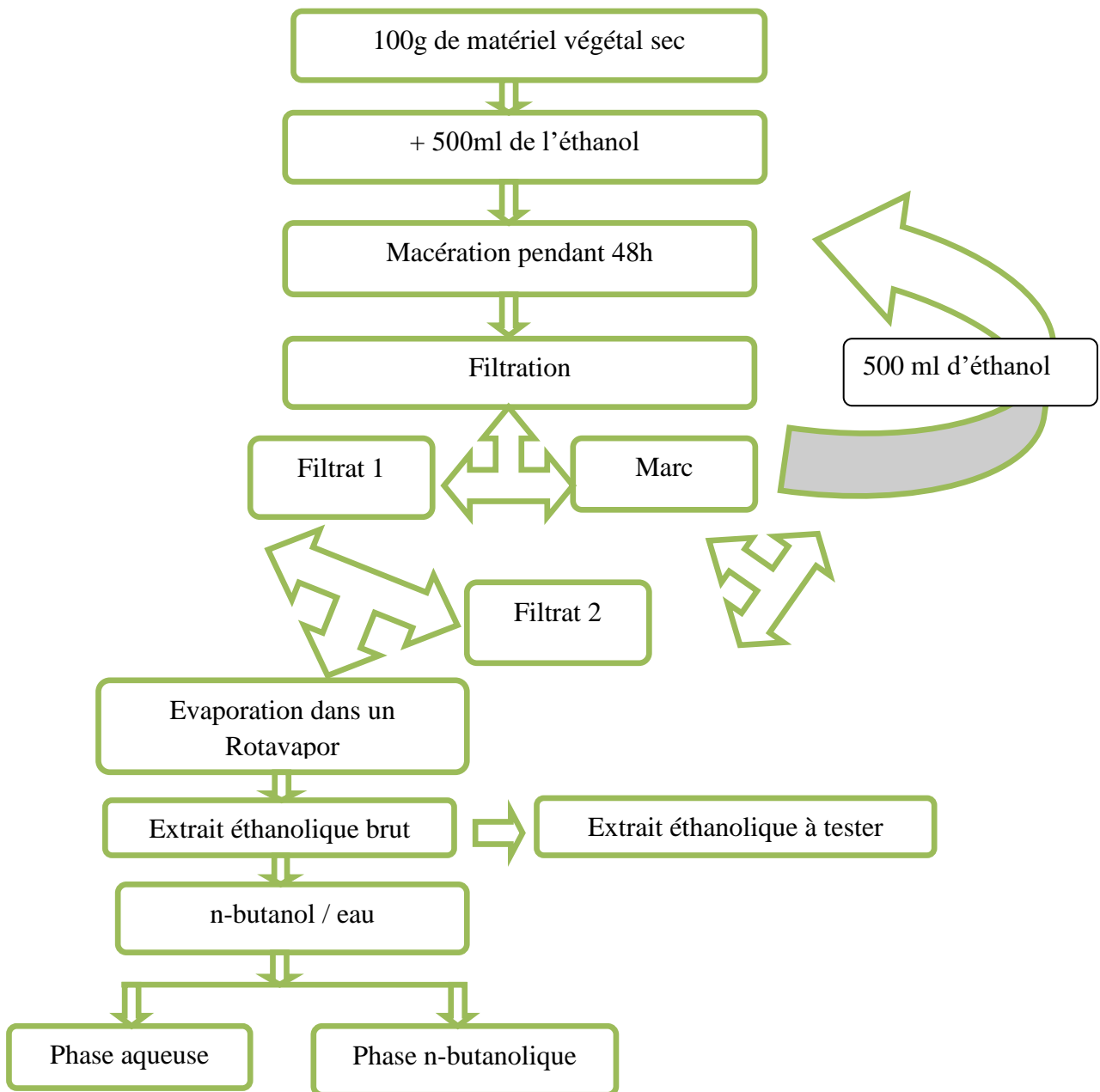


Figure 12 : Schéma d'extraction de *M. sylvestris* et *R. alaternus*(Chiang et al., 1994)

Il est noté, qu'après l'extraction 3 phases pour chaque plante ont été obtenues. Le taux d'extraction de chaque extrait sec a été calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Taux d'extraction} = [(P - P_0) / \text{poids de poudre}] \times 100$$

Où :

P_0 : poids vide de la boîte de pétri.

P : poids après évaporation du solvant.

II.2.2.DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES

Dans le but d'évaluer quantitativement le contenu en composés phénoliques des extraits de *M. sylvestris* et *R.alaternus* deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.

II.2.2.1. DOSAGE DES PHENOLS TOTAUX

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Yap et al ., 2009**).

- **PRINCIPE**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765nm.

- **PROTOCOLE EXPERIMENTALE**

Le contenu en phénols totaux des extraits a été déterminé en utilisant le protocole de (**Yap et al., 2009**), avec quelque modification. Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer les concentrations en phénol totaux des extraits exprimées en mg équivalent acide gallique/g d'extrait.

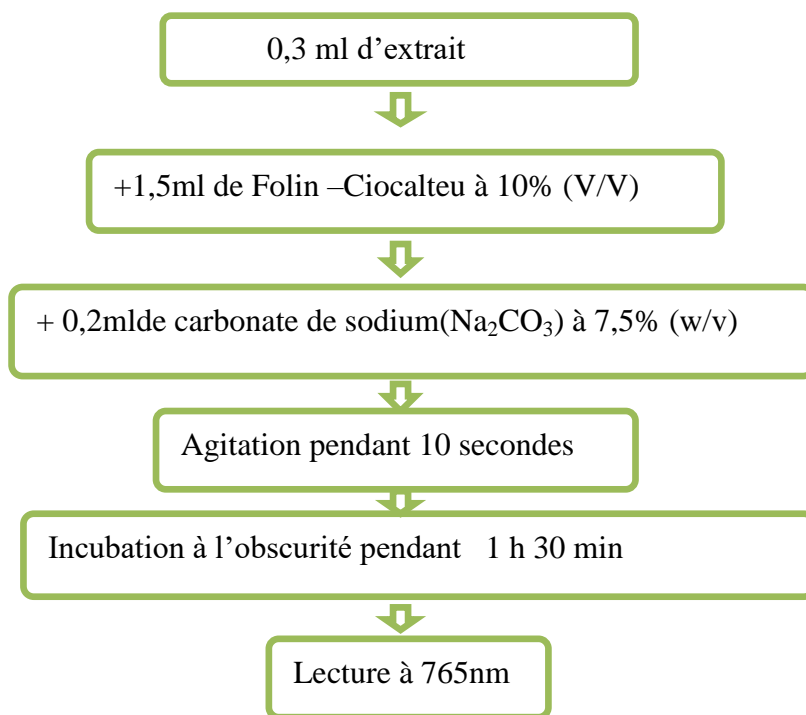


Figure 13 : Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin- Ciocalteu (Yap *et al.*, 2009)

II.2.2.2.DOSAGE DES FLAVONOÏDES

• PRINCIPE

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium.

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribereau-Gayon, 1968).

• PROTOCOLE EXPERIMENTALE

L'évaluation quantitative des flavonoides totaux dans les différentes fraction est réaliséé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996).

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de *R.alaternus* et *M.sylvestris* ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la

quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ g d'extrait.

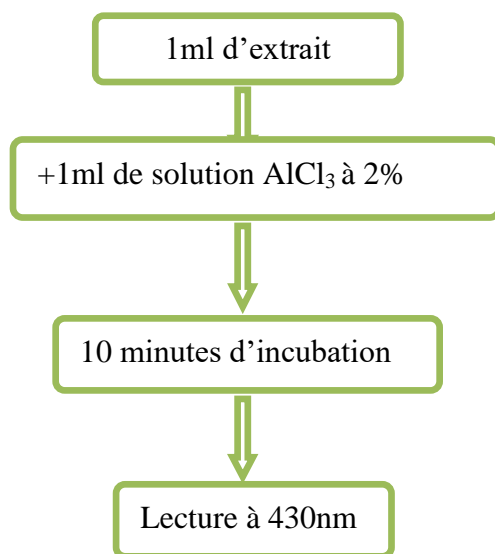


Figure 14 : Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de (Bahorun et al., 1996).

II.2.3.EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS

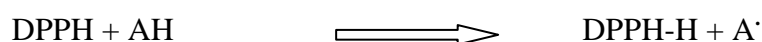
L'activité antioxydante a été évaluée en testant l'activité scavenging du radical DPPH, ABTS^{•+}, et le pouvoir réducteur des extraits.

II.2.3.1. ACTIVITE ANTIRADICALAIRE AU RADICAL DPPH[•]

- **PRINCIPE**

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.), permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait.

Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺.



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires (Molyneux, 2004).

- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Brand-Williams et al. (1995)**, avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100ml de méthanol.

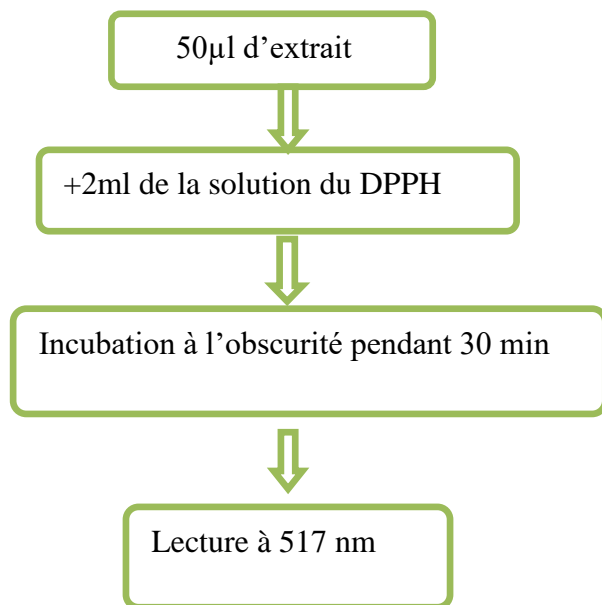


Figure 15: Protocole d'étude de l'activité « scavenging » du DPPH' (**Brand-Williams et al.,1995**).

L'acide gallique et la quercétine ont été utilisés comme standard à différentes concentrations et l'activité antiradicalaire de chaque extrait a été estimée en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical DPPH} = [(A_T - (A_E - A_B)) / A_T] \times 100$$

A_T : absorbance du control (solution du DPPH)

A_E : absorbance de l'échantillon

A_B : absorbance du blanc.

II.2.3.2. ACTIVITE ANTIRADICALAIRE AU RADICAL L'ABTS^{•+}

• PRINCIPE

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Au cours de ce test, le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cation (ABTS^{•+}) de couleur sombre (vert bleu) en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution (Owen et Johns, 1999).

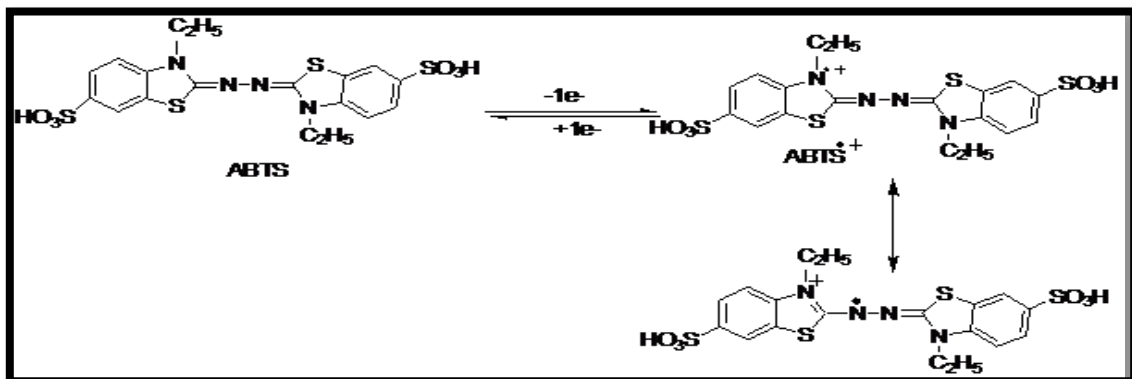


Figure 16 : Oxydation partielle de l'ABTS (Osman et al., 2006).

• PROTOCOLE EXPERIMENTALE

La mesure de l'activité scavenging du radical ABTS a été effectuée en suivant le protocole de Mighri et al. (2010), qui est schématisé dans la figure :

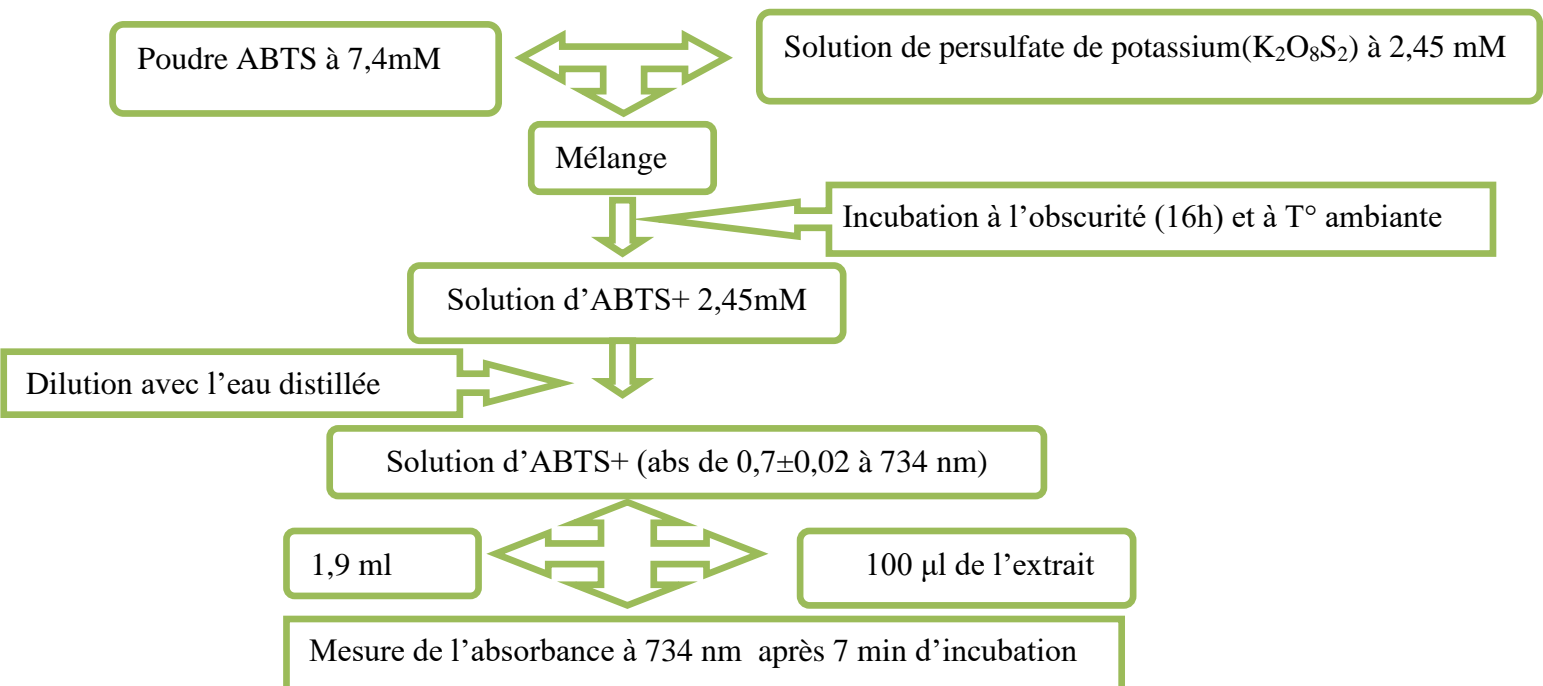


Figure 17 : Protocole d'étude de l'activité antioxydante de l'ABTS^{•+} (Mighri et al., 2010).

Le trolox a été utilisé comme standard à différentes concentrations. Le pourcentage de l'activité scavenging du radical ABTS⁺ des différents extraits est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical ABTS}^+ = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ : absorbance du contrôle

A₁ : absorbance du l'extrait + ABTS⁺

II.2.3.3.LA REDUCTION DE CHLORURE FERRIQUE

- **PRINCIPE**

Cette méthode est basée sur la capacité des composés réducteurs, à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du ferrocyanure de potassium pour donner du fer ferreux (Fe²⁺) .

La réaction est révélée par le virement de couleur jaune de (Fe³⁺) en couleur bleu vert de (Fe²⁺), l'absorbance est mesurée à 700 nm (**Oyaizu, 1986**) .une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert,2006**).

- **PROTOCOLE EXPERIMENTALE**

La détermination du pouvoir réducteur à été réalisée selon la méthode de **Berker et al. (2007)**.

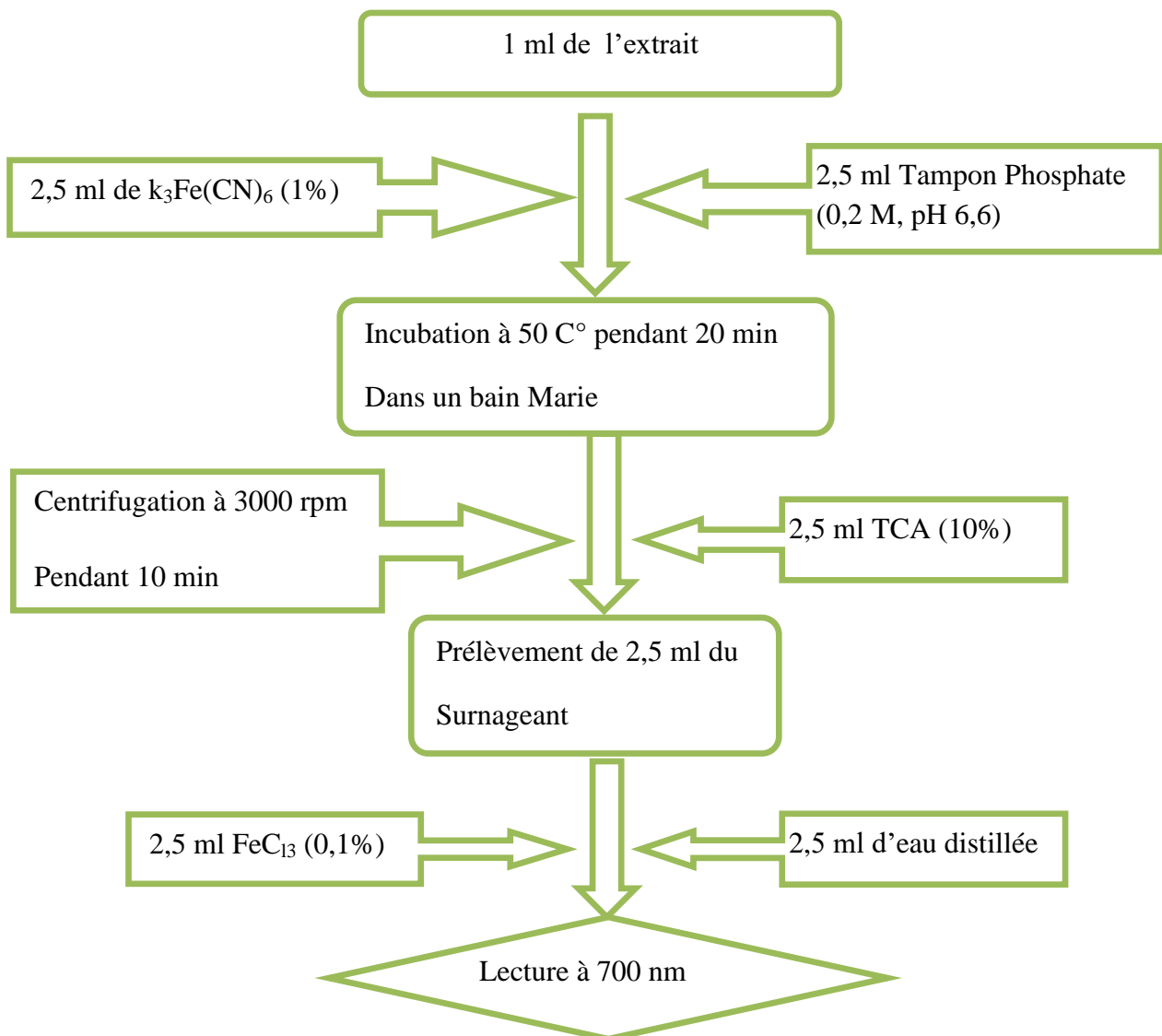


Figure 18: Protocole d'étude du pouvoir réducteur (Berker et al.,2007).

II.3.ETUDE STATISTIQUE

Dans chaque essai, les données expérimentales représentent la moyenne de trois essais indépendants \pm écart-type ($n=3$).les moyennes ont été comparées en utilisant l'application ANOVA (STATISTICA 5.5).pour toutes les analyses α a été fixée à 0.05.les représentations ont été déterminées sur le programme EXCEL.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1.TAUX D'EXTRACTION

Dans ce travail, une macération a été réalisée sur la poudre de la partie aérienne de *Rhamnus alaternus* et *Malva sylvestris* en utilisant plusieurs solvants : Ethanol, n-butanol et l'eau distillée.

On a commencé l'extraction par l'éthanol (96%) car il permet d'extraire le maximum de composés phénoliques et de substances actives.

Les pourcentages d'extraction des différentes phases des deux plantes sont représentés dans l'histogramme suivant :

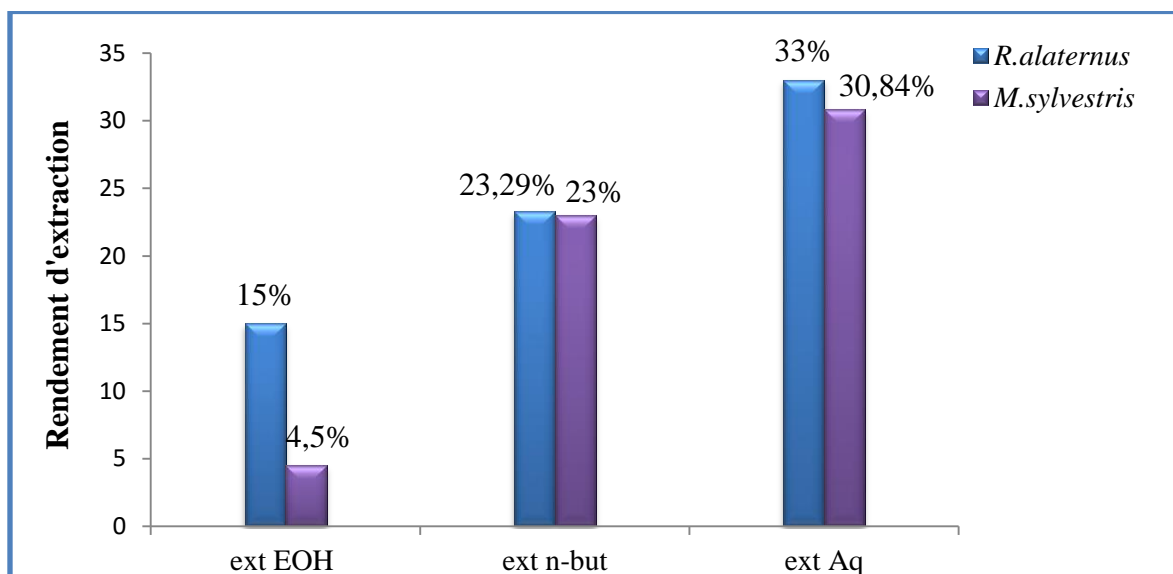


Figure19 : Le rendement d'extraction de *Rhamnus alaternus* et *Malva sylvestris*.

Nous constatons que le rendement le plus élevés de la partie aérienne de *R.alaternus* est celui de l'extrait aqueux (33.38%) suivi de l'extrait butanolique (23.92%) alors que le rendement le plus faible est obtenu par l'extrait éthanolique (15%).

Concernant *M.sylvestris* le rendement le plus important est obtenu dans l'extrait aqueux (30.84%) suivis de l'extrait butanolique (23%) alors que le rendement le plus faible est obtenu avec l'extrait éthanolique (4.5%).

Ces résultats montre que le rendement des phases butanolique et aqueuse sont similaires et appréciables pour *R.alaternus* et *Malva sylvestris*.contrairement, dans la phase éthanolique nous avons obtenus un rendement plus élevé avec *R.alaternus* par rapport à celui de *M.sylvestris*.

Dans une étude réalisée par **Ben Ammar et al (2008)** sur *R.alaternus* originaire de Tunisie, des résultats inférieurs ont été trouvés. En effet la macération des feuilles dans le méthanol suivi par le butanol saturée en eau a donné un rendement de 9 % .

Tandis que **Ljubuncic et al (2005)** ont obtenus un taux d'extraction qui est de l'ordre de 8% en utilisant l'eau distillé comme solvant.

Cependant, **Jaradat et al (2015)** ont obtenus par la méthode de macération avec *M.sylvestris* un rendement de l'ordre de 1.64% pour l'extrait hexanique et 42% pour l'extrait aqueux en utilisant le méthanol comme solvant.

D'après ces résultats, on constate que le taux d'extraction des composés phénoliques dépend de la méthode, la nature du solvant, la température et de la taille des particules constituants la poudre de la plante.

III.2.DOSAGE DES ANTIOXYDANTS

III.2.1.POLYPHENOLS TOTAUX

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc...).

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Au cours du dosage des polyphénols, après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des polyphénols dans les extraits de *M.sylvestris* et *R.alaternus*.

La quantité des polyphénols correspondante de chaque phase a été rapportée en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait où les barres représentent les écarts-type.

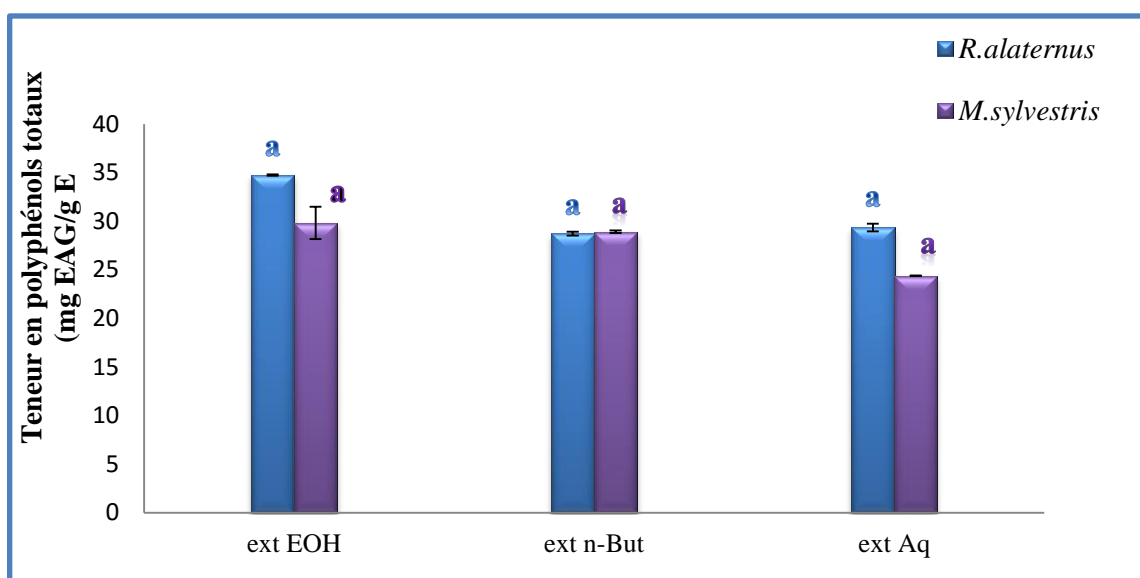


Figure 20: Teneur en polyphénols de *Rhamnus alaternus* et *Malva sylvestris*.

La figure 20, montre que tous les extraits éthanolique, butanolique et aqueux de la partie aérienne de *R.alaternus*, présentent des teneurs élevées en polyphénols ($34.75 \pm 0,071$, $28.71 \pm 0,2$ et $29.34 \pm 0,39$ mg Eq AG /g d'extrait) respectivement.

Cependant, pour *M.sylvestris* la teneur en polyphénols est similaire pour tous les extraits éthanolique, butanolique et aqueux avec des teneurs $29.82 \pm 1,65$, $28.9 \pm 0,12$, $24.37 \pm 0,015$ mg Eq AG /g d'extrait respectivement.

L'étude statistique a montré que la quantité des composés phénoliques extraite à partir de la partie aérienne de *R.alaternus* et *M.sylvestris* ne présente pas une différence significative(a), ($p < 0.05$).

Ces résultats obtenus pour *R.alaternus* sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Djeridane et al (2007)** qui est de 6 mg EQ/ g de matière fraîche pour un extrait éthanolique de la partie aérienne.

Une étude réalisée par **Ben Ammar et al (2008)** sur la même espèce végétale. En effet, ils ont déterminé 7 mg EAG/ g de matière fraîche pour un extrait méthanolique.

D'autres résultats obtenus par **khettel et al (2011)** ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *R.alaternus* est riche en polyphénols ($150-9.7$ mgEqAG/g).

Kosalec et al (2013) ont utilisées le méthanol comme solvants, ont obtenus une quantité de polyphénols égale à 38.5 ± 1.56 mg Eq AG/g d'extrait.

Les résultats trouvés par **Beghdad et al, 2014** sur *M.sylvestris* sont de 24.123 ± 0.718 mg EAG/g d'extrait des feuilles en utilisant comme solvant l'éthanol à 96% par la méthode de macération.

III.2.2.FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes en phytothérapie qui proviennent du métabolisme végétal, on les retrouve dans les différentes parties de la plante.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et l'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ /g d'extrait). Les taux des flavonoïdes des différentes phases de *R.alaternus* et *M.sylvestris* ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage.

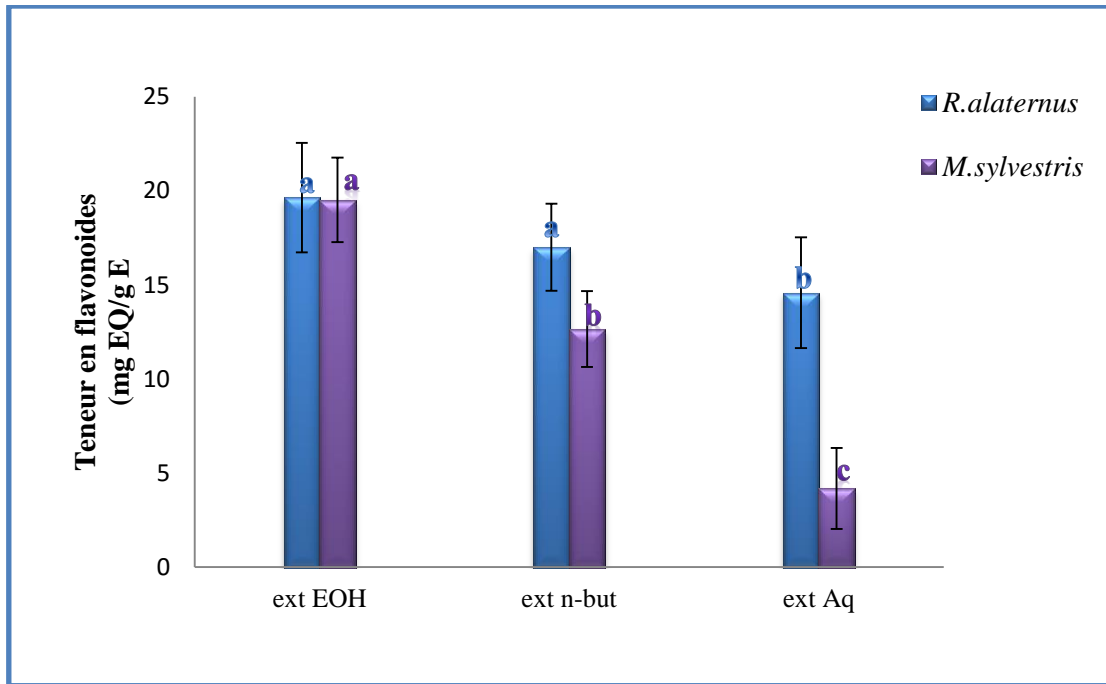


Figure 21 : Teneur en flavonoïdes de *Rhamnus alaternus* et *Malva sylvestris*.

D'après la figure ci-dessus, on constate que chez *R.alaternus* les taux les plus élevées de flavonoïdes se trouvent dans les extraits butanolique et éthanolique avec des teneurs respectives ($19.63 \pm 2,3$ et $17 \pm 2,92$ mg EQ/g d'extrait) suivis d'extraits éthanolique avec un taux ($14.58 \pm 2,95$ mg EQ/g d'extrait).

Pour les extraits de *M.sylvestris*, les flavonoïdes sont concentrés au niveau de l'extrait éthanolique avec une teneur de ($19.52 \pm 2,27$ mg EQ/g d'extrait) suivi par l'extrait butanolique avec un taux de ($12.65 \pm 2,01$ mg EQ/g d'extrait), par ailleurs l'extrait aqueux est très pauvre en flavonoïdes ($4.5 \pm 2,16$ mg EQ/g d'extrait).

Les flavonoïdes étant concentrés au niveau de la phase éthanolique pour les deux plantes où *R.alaternus* est la plus riche en flavonoïdes.

D'après l'analyse statistique, Les teneurs en flavonoïdes des différentes phases de *R.alaternus* et *M.sylvestris* varient d'une manière significative ($a > b$) et ($a > b > c$) respectivement à ($p < 0.05$).

Une étude réalisée par **Ben Ammar et al (2007)** a rapporté que l'extrait méthanolique des feuilles de *R.alaternus* de Tunisie contient environ 283 ± 11 mg EQ/g d'extrait.

Khettel et al (2011) ont également trouvé que cette plante est riche en flavonoïdes avec 92 ± 14 mg EQ /g d'extrait sec.

Boussahel et al (2013) ont confirmé la présence des flavonoïdes chez cette espèce avec une teneur de $61.127 - + 1.217$ mg EQ/g d'extrait.

Beghdad *et al* (2014) ont trouvés pour les feuilles de *M.sylvestris* une teneur de 5.694 ± 0.017 mg équivalent de rutine / g d'extrait en utilisant comme solvants l'éthanol à 96% par la méthode de macération.

III.2.2.EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits des plantes a été réalisée par trois techniques chimiques (le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du radical ABTS et la réduction du chlorure ferrique).

III.2.2.1.ACTIVITE ANTIRADICALAIRE DPPH

Le radical DPPH[•] est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*,2008).

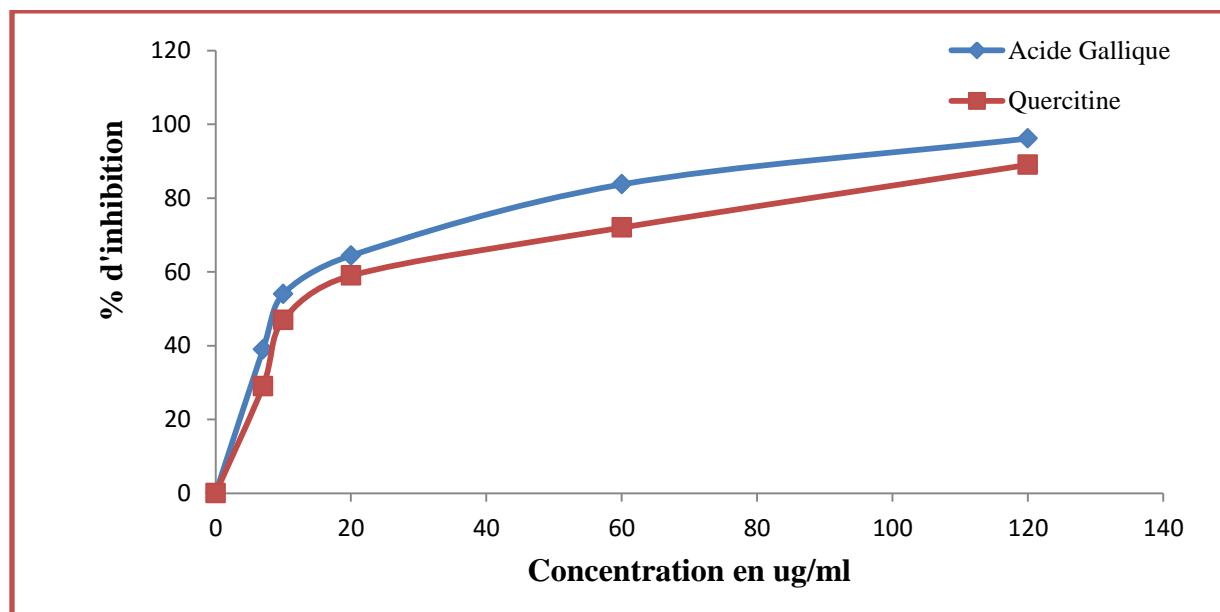


Figure22 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] en fonction de la concentration en acide gallique et quercétine.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des concentrations des extraits, au-dessous :

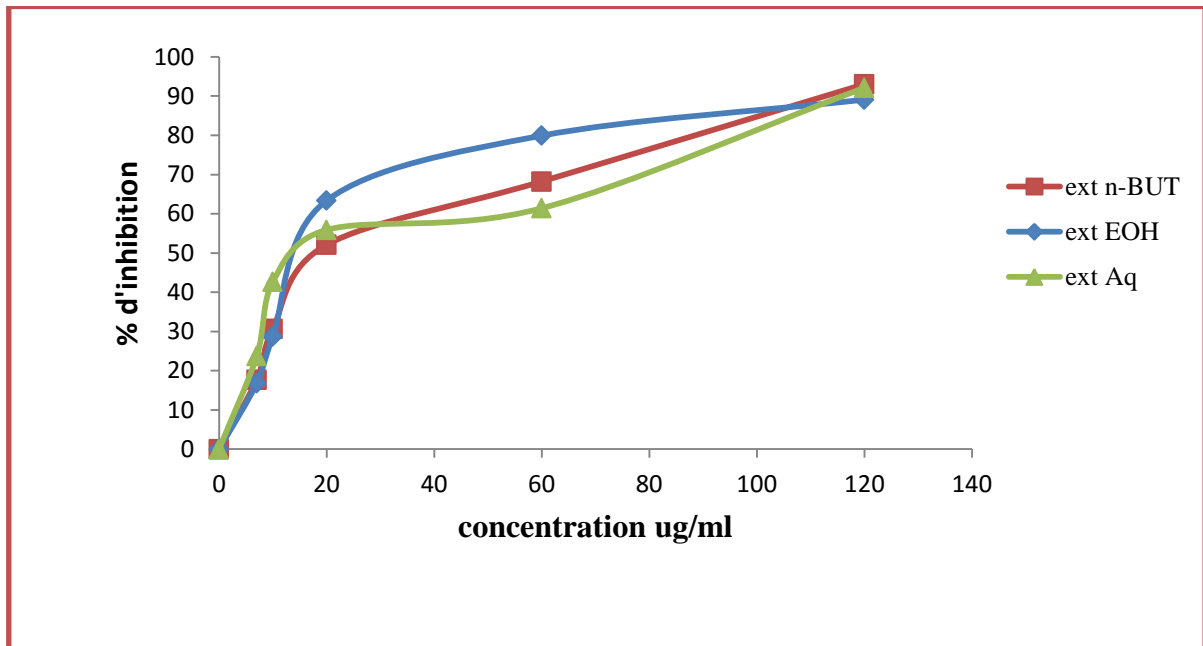


Figure 23 : Effets scavenger contre le radical DPPH[•] des trois phases de *R. alaternus* à différentes concentrations.

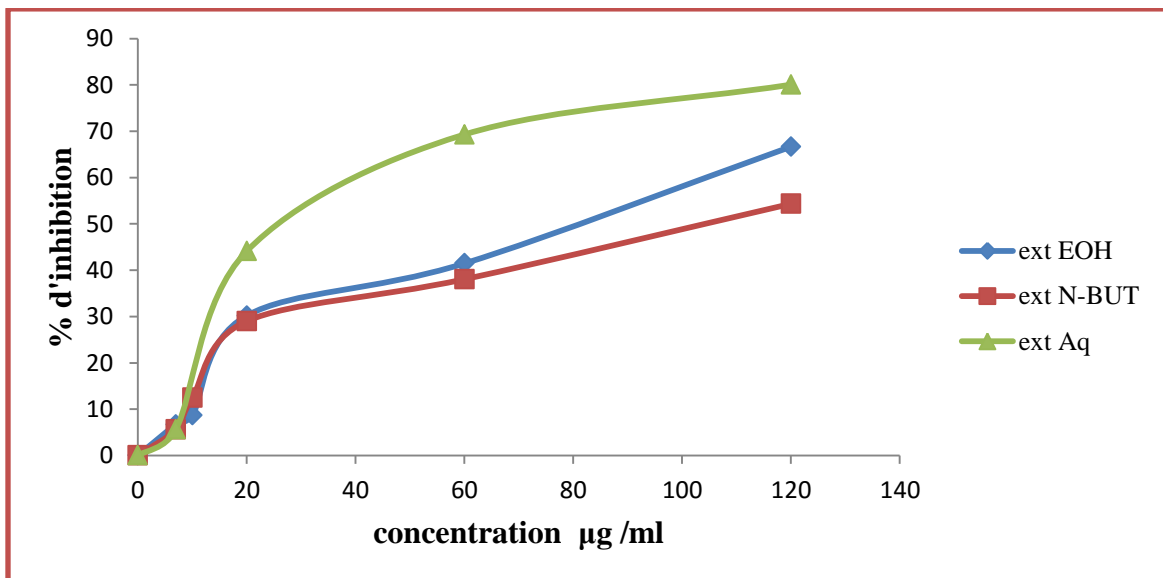


Figure 24 : Effets scavenger contre le radical DPPH des trois phases de *M. sylvestris* à différentes concentrations.

D'après les résultats de la figure 25 et 26, on remarque que tous les extraits des deux plantes ont exhibés des effets scavenging contre le radical DPPH[•].

En effet, l'extrait butanolique de *R.alaternus* montre l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 93.04% à une concentration de 120 µg/ml suivi de l'extrait

aqueux et éthanolique avec des pourcentages respectifs de 92.12% et 89.1%. Par contre l'extrait aqueux de *M.sylvestris* présente une grande capacité de piégeage du radical DPPH avec un pourcentage de 92.25% à une concentration de 120 µg/ml suivi de l'extrait éthanolique et butanolique avec des pourcentages de 66.6% et 54.33% respectivement.

Cependant, ces activités sont meilleures par rapport à la quercétine et l'acide gallique à la même concentration. On peut aussi conclure que *R.alaternus* présente une activité antiradicalaire plus élevée par rapport à celle de *M.sylvestris*.

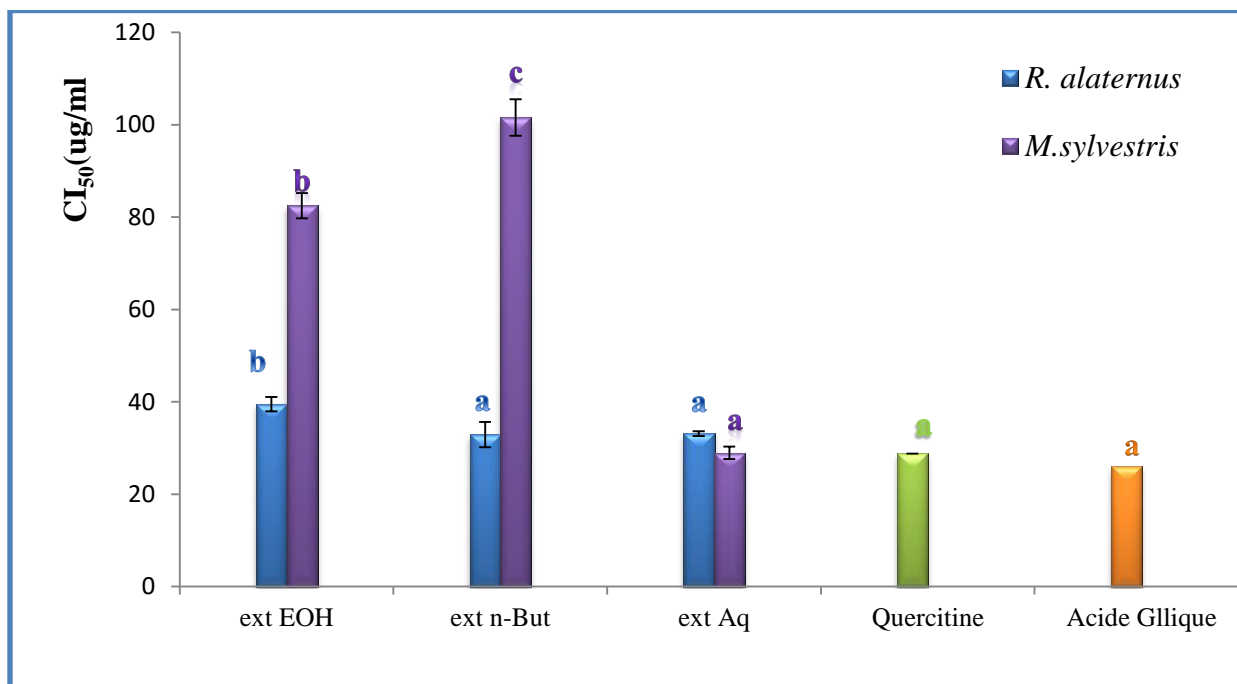


Figure 25: Histogramme représentant les CI_{50} pour les différentes phases de *R.alaternus* et *M.sylvestris*, la quercétine et l'acide gallique.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en CI_{50} qui désigne la concentration efficace du substrat qui aboutit à inhiber 50% de l'activité du radical DPPH.

D'après les résultats rapportés dans la figure 25, La CI_{50} qui exprime le potentiel antiradicalaire le plus important est celui de l'extrait butanolique de *R.alaternus* ($32.92 \pm 2,75 \mu\text{g/ml}$) suivi par l' CI_{50} de l'extrait aqueux et éthanolique ($33.12 \pm 0,52$, $39.53 \pm 1,54 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Concernant *M.sylvestris* La CI_{50} qui exprime le potentiel antiradicalaire le plus important est celui de l'extrait aqueux ($28.96 \pm 1,34 \mu\text{g/ml}$) suivi par l'extrait éthanolique ($82.1 \pm 2,72 \mu\text{g/ml}$), par contre l'extrait butanolique présente une faible activité antiradicalaire avec une CI_{50} de $101.6 \pm 3,93 \mu\text{g/ml}$.

Les CI_{50} de la quercétine et l'acide gallique sont respectivement de l'ordre 28.77 et 26 $\mu\text{g/ml}$, elles sont inférieures à celle des deux plantes. Donc, elles présentent une grande activité antiradicalaire contre le DPPH \cdot .

L'étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0.05$) de l'activité antiradicalaire contre le DPPH \cdot entre l'extrait éthanolique et les extraits butanolique et aqueux de *R.alaternus* ($b < a$) Concernant *M.sylvestris*, les différents extraits présente une différence significative où ($a > b > c$), à ($p < 0.05$).

L'analyse statistique de l'acide gallique et la quercétine n'a montré aucune différence significative(a), ($p < 0.05$).

Une étude menée par **Ben Ammar et al (2008)** a montré des CI_{50} de 7 et 19 $\mu\text{g/ml}$ des écorces des racines et des feuilles respectivement de *R.alaternus*, lorsque l'extraction été menée par le méthanol suivie par une extraction dans le butanol saturé en eau.

Boussahel et al (2013) ; **Kosalec et al (2013)** ainsi que **Khettel et al (2011)** ont trouvé que *R.alaternus* présente des CI_{50} de $82 \pm 0.6 \mu\text{g/ml}$; $78.7 \pm 3.166 \mu\text{g/ml}$ et $50 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

En comparaison avec l'étude réalisée par **Jaradat et al (2015)** qui a donner avec *M.sylvestris* une CI_{50} de $40.2 \mu\text{g/ml}$ avec l'extrait méthanolique pour une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$.

Une autre étude réalisée par **Gasparetto et al (2011)** à donner une CI_{50} de 4.47 mg/ml à partir d'un extrait méthanoliques obtenue par décoction des feuilles de *M.sylvestris*.

III.2.2.2.ACTIVITES ANTIRADICALAIRE ABTS

Le test d'ABTS est l'un des méthodes largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydante des extraits des plantes.

En présence de l'agent antioxydant , le radical $ABTS^{\cdot+}$ est réduit pour donner le cation $ABTS^+$, ce qui entraîne la décoloration de la solution (**Mighti et al ., 2010**).

L'étude de l'activité scavenging du radical $ABTS^{\cdot+}$ selon le protocole de **Mighri et al (2010)**, nous a fourni les résultats exprimés en pourcentage d'inhibition dans les figures suivantes :

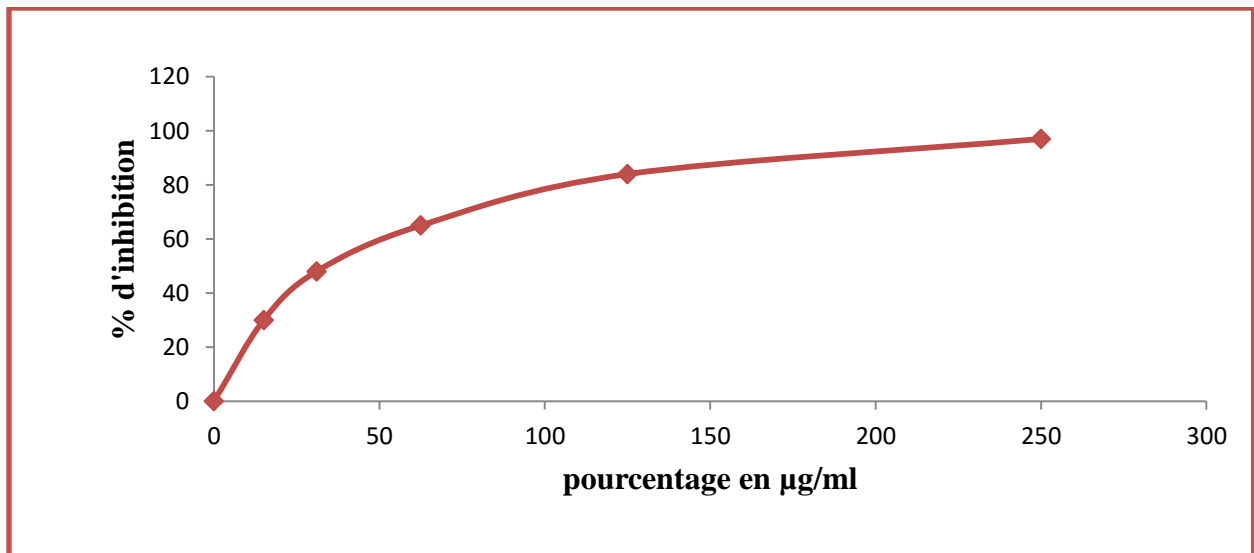


Figure 26: Pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\cdot+}$ en fonction de la concentration en Trolox.

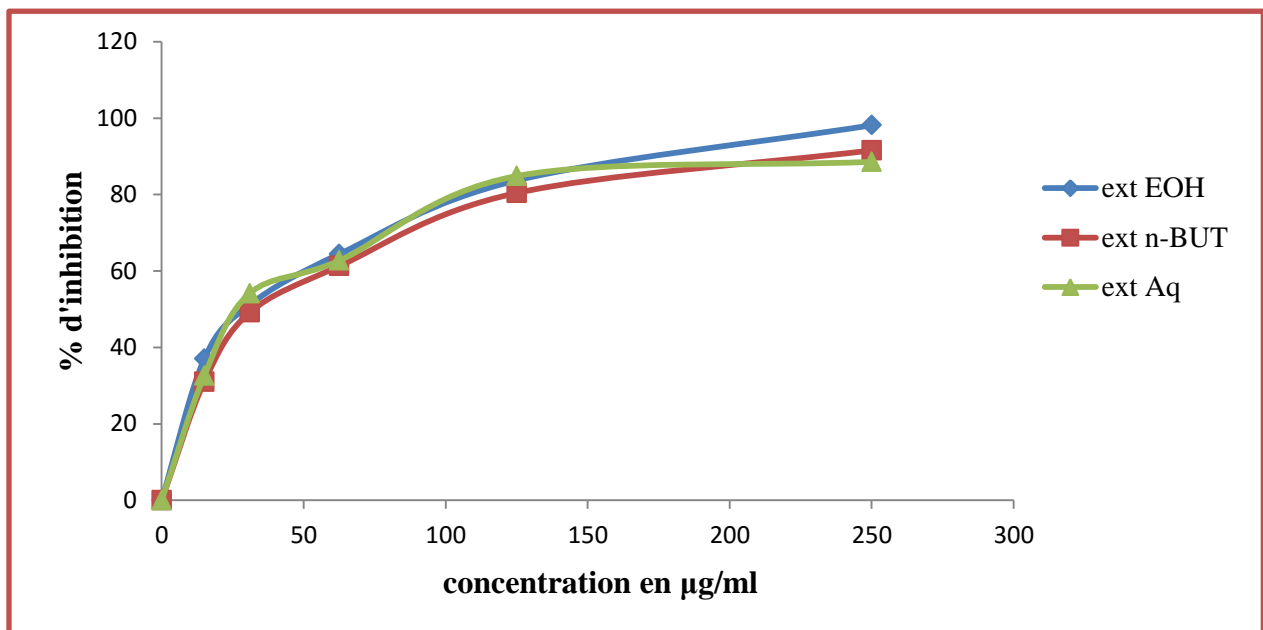


Figure 27: Pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\cdot+}$ par les trois phases de *R.alaternus* à différentes concentrations.

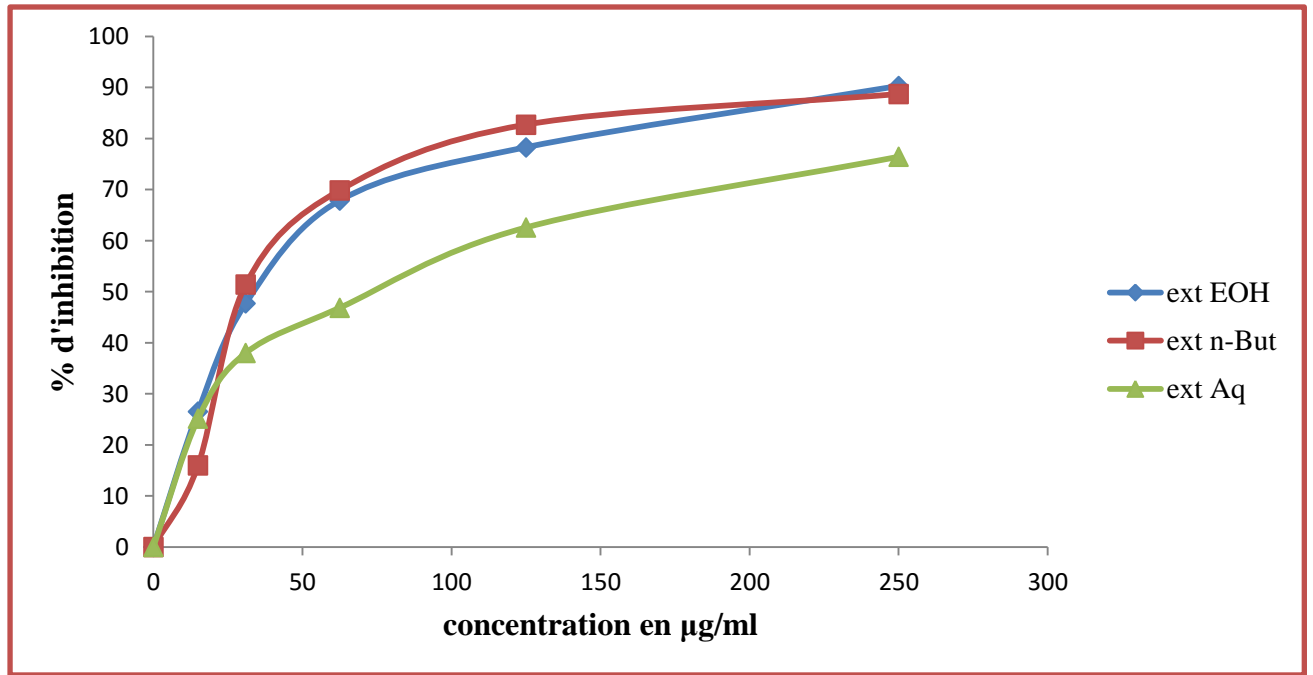


Figure 28: Pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} par les trois phases de *M. sylvestris* à différentes concentrations.

À partir des figures 27 et 28, nous constatons que tous les extraits de *R. alaternus* ont exhibé une forte activité antiradicalaire à 250 µg/ml pour les trois phases avec des pourcentages d'inhibition de 98.14%, 91.57%, 88.57% respectivement.

Cependant pour *M. sylvestris* les extraits éthanolique et butanolique montrent une activité plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 90.28%, 88.71% respectivement à une concentration de 250 µg/ml suivi de l'extrait aqueux avec un pourcentage d'inhibition de 76.72%.

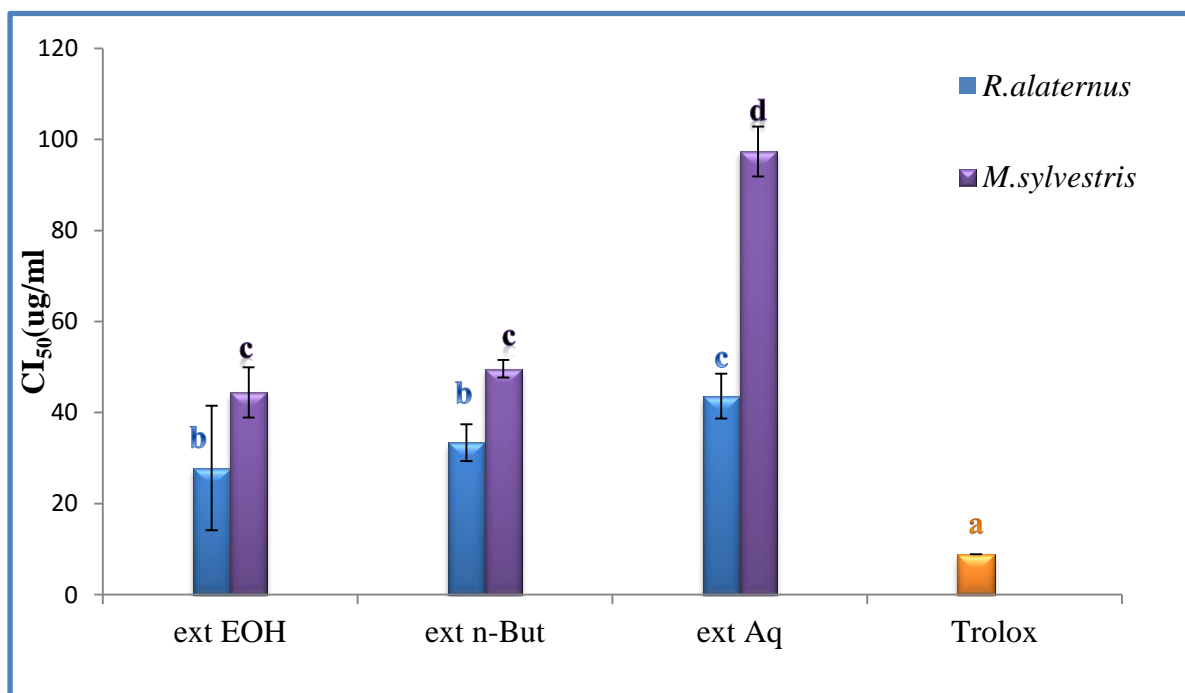


Figure 29 : Histogramme représentant les CI_{50} pour les différentes phases de *M.sylvestris* et *R.alaternus* et le Trolox.

D'après la figure 29, chez la partie aérienne de *R.alaternus* tous les CI_{50} de trois extraits éthanolique, butanolique, aqueux expriment des potentiels importants ($27,81 \pm 13,69$, $33,4 \pm 4,03$ et $43,61 \pm 4,89$ $\mu\text{g/ml}$) respectivement.

Tandis que, chez *M.sylvestris* les CI_{50} qui exprime le potentiel antiradicalaire le plus important est celui de l'extrait éthanolique et butanolique ($44,42 \pm 5,53$ et $49,62 \pm 1,91$ $\mu\text{g/ml}$) respectivement suivi par l'extrait aqueux avec une CI_{50} de $97,33 \pm 5,47$ $\mu\text{g/ml}$.

L'analyse statistique a montré une différence significative ($p < 0,05$) entre l'extrait aqueux par rapport aux extraits éthanolique et butanolique ($c < b$) et ($d < c$) à la fois pour *R.alaternus* et *M.sylvestris*.

Bhouri et al (2012) ont rapportés des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 72% et 97% respectivement à une concentration de 0.2mg/ml de *R.alaternus*.

III.3.POUVOIR REDUCTEUR

Le pouvoir réducteur d'une molécule est relatif à sa capacité de transfert des électrons et peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante. Dans cette technique, la

couleur jaune de la solution change au vert-bleu selon le pouvoir réducteur de l'échantillon testé. Une absorbance élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur élevé.

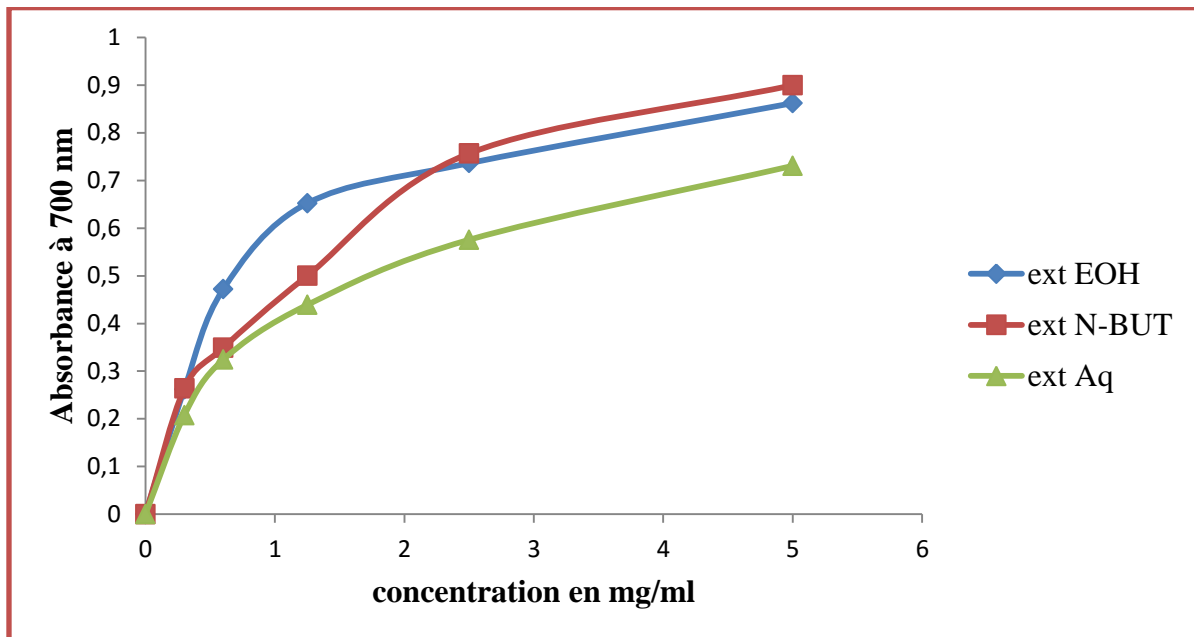


Figure 30 : Graphe représentant les absorbances à 700nm des trois phases de *R.alaternus*.

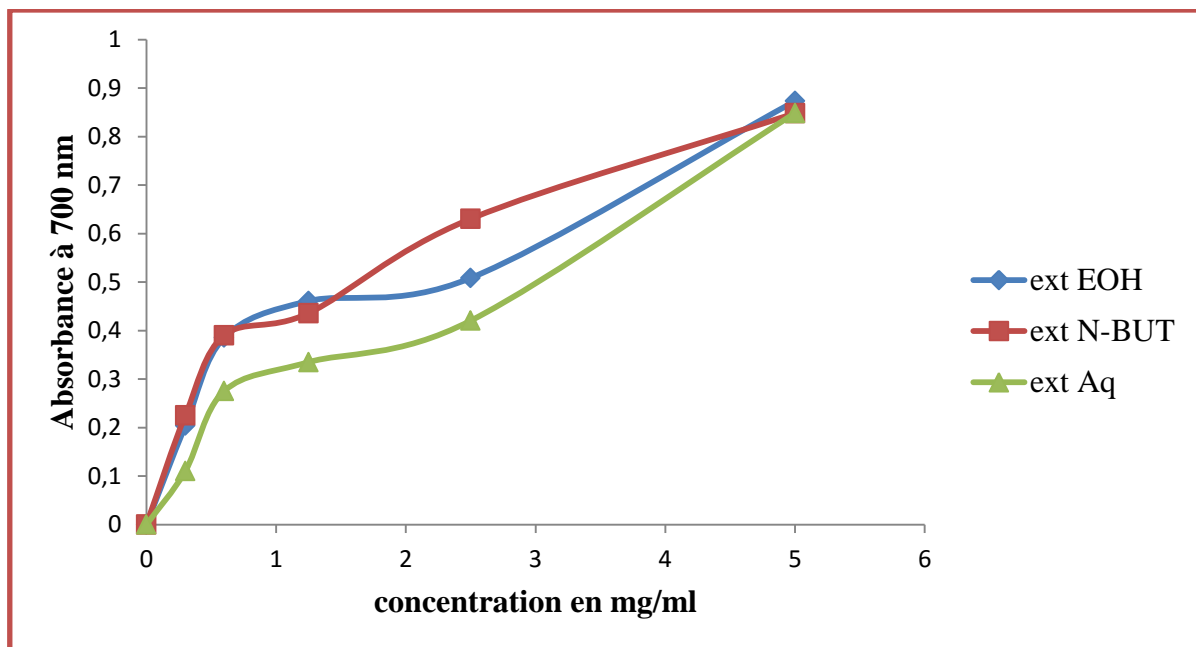


Figure 31: Graphe représentant les absorbances à 700nm des trois phases de *M.sylvestris*.

D'après cette représentation graphique, nous remarquons que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des différentes phases de *R.alaternus* et *M.sylvestris*.

D'après la figure 30, nous constatons que la capacité la plus élevée pour *R.alaternus* a été obtenue avec l'extrait butanolique (0.899), suivi de l'extrait éthanolique, alors que l'extrait aqueux a présenté un pouvoir réducteur inférieur.

Quand *M.sylvestris* c'est l'extrait éthanolique qui a exhibé le pouvoir réducteur le plus important qui est de 0.873 suivis de l'extrait aqueux et l'extrait butanolique.

Finalement nous déduisons que *R.alaternus* possède un pouvoir réducteur supérieur à celui obtenu par *M.sylvestris*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

L'objectif primordial assigné par cette étude et d'évaluer les propriétés antioxydantes des plantes *Malva sylvestris* et *Rhamnus alaternus* utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour traitement de plusieurs maladies.

L'extraction de la partie aérienne de notre plante a montré de bons rendements. Le résultat obtenu montre que l'extrait aqueux a présenté le rendement le plus élevé suivi de l'extrait butanolique, tandis que l'extrait éthanolique a montré le rendement le plus faible.

L'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin- Ciocalteu révèle la présence des quantités intéressantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous mène à conclure que ces deux plantes sont riches en flavonoïdes.

L'évaluation de potentiel antiradicalaire des extraits par le test au DPPH^\bullet et $\text{ABTS}^{+\bullet}$ a montré que les composés phénoliques des deux plantes étudiées étaient doués de l'activité antioxydante.

D'après les résultats nos plantes ont montré une bonne activité avec les trois phases. Pour le test DPPH la phase butanolique de *R.alaternus* a présenté l'activité la plus élevée avec une CI_{50} de $32 \pm 2.75 \mu\text{g/ml}$ et la phase aqueuse de *M.sylvestris* avec une CI_{50} de $28,93 \pm 1.34 \mu\text{g/ml}$.

Cependant pour le test ABTS, la phase éthanolique de *R.alaternus* et *M.sylvestris* ont donnés une bonne activité de CI_{50} qui est de 27.81 ± 13.69 et $44.42 \pm 5.53 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

En ce qui concerne le pouvoir réducteur, les extraits des plantes étudiées à révéler une capacité réductrice du fer dont nous avons obtenue une absorbance de 0.899 avec l'extrait butanolique de *R.alaternus* pour une concentration de 5mg/ml. A cette concentration la phase éthanolique de *M.sylvestris* a une absorbance de 0.873.

D'après ces résultats, on peut déduire que *R.alaternus* présente une activité antioxydante plus efficace par rapport à celle de *M.sylvestris*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, et pour compléter la présente étude, il serait important :

- De faire des travaux supplémentaires pour identifier et isoler les composés bioactifs en utilisant plusieurs techniques plus fines (CCM, HPLC...).
- D'approfondir les recherches sur les propriétés pharmacologiques de *R.alaternus* et *M.sylvestris*
- De faire des études in vitro et in vivo pour évaluer d'autres propriétés : antioxydantes, biologiques à savoir anti-inflammatoires ; antimicrobiennes ; anticancéreuses etc...

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collan, P., and Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7) :636-643.
- ❖ Akash MSH, Shen Q, Rehman K, Chen S. (2012). Interleukin-1 receptor antagonist : a new therapy for type 2 diabetes mellitus. *Journal of Pharmaceutical Science*, 101: 1647–1658.
- ❖ Akerreta, S. (2009). *Etnobotanica Farmacéutica en Navarra : del uso tradicion al de las plantas medicinales a su evidencia científica (Ph.D.thesis)*. Faculty of science, University of Navarra, p.831, Pamplona, Spain.
- ❖ Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008). biochimie alimentaire. Edition : Dunode. Paris. pp.125-126.
- ❖ Ammour, K. (2015). Hepatoprotective effects of the decoction and macerated leaves of *Rhamnus alaternus L.* On rats exposed to carbon tetrachloride. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 7(10): 253-262.
- ❖ A.M. Osman, K.K., Wong, A., Fernyhough. (2006). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346 : 321–329.
- ❖ Bahorun, T., Gressier, B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *ArzneimlForsch /Drug Research*, 46(11) :1086-1089.
- ❖ Ballasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2007). Phenolic compounds in plants and agricol-industrial by products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99:191-203.
- ❖ Bardain, J.-M. (2004). Dictionnaire illustré des plantes médicinales. France : Ed. Lodi.
- ❖ Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9 : 5-21.
- ❖ Beaudeau, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand, D., Peyn et J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21 : 144–150.
- ❖ Beghdad, M.C., Benammar, C., Bensalah, F., Sabri, F.Z., Belarbi, M., Chemat, F. (2014). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris L.*) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 13 (3) : 486-491.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Beloued,A.(2001).Les plantes médicinales d'Algérie .Ben Aknoun,Alger :Ed.OPU.
- ❖ Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel I., Ezzi, L., Skandrani, I., Boubaker, J., Ben Sghaier, M.,Naffeti,A., Mahmoud,A., Chekir-Ghedira, L. and Ghedira, K.(2008). Antiproliferative, Antioxidant, and AntimutagenicActivities of Flavonoid-EnrichedExtractsfrom (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combinationwith the Phytochemical Composition. *Drug and Chemistry Toxicological*, 31: 61-80.
- ❖ BenAmmar R. B., Bhourri W., Sghaier M. B., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlel I., Kilani S., Mariotte A. M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M. G. Đ. and Ghedira K. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116: 258-264.
- ❖ Berker,K.I.,Guclu,k.,Tor,I.,and Apak,R.(2007).Comparative evaluation of Fe reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline , batho-phenanthroline, tripyridyltriazine(FRAP),and ferricyanidee reagents.*Talanta*.In press.
- ❖ Berroukche ,A., Kahloula, K., Slimani, M., Denai, I.(2015). Hepatoprotective effects of the decoction and macerated leaves of *Rhamnus alaternus* L. on rats exposed to carbon tetrachloride. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(10), pp. 253-262.
- ❖ Bhourri W., Boubaker J., Kilani S., Ghedira K. and Chekir-Ghedira L.(2012). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*): Kaempferol 3-O-□-isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. *Science African Journal Boot*, 80: 57-62.
- ❖ Binove,L.(2001).oxydant/antioxydant: un équilibre important.
- ❖ Boek, D., and Larcier, S.A. (2006). *Biochimie structurale et métabolique*. Bruxelles.3^{eme} éd.p327.
- ❖ Bonnefont-Rousselot, D., Delattre, J., Beaudoux ,J. L., (2005) : oxidation des acides aminés et des protiéenes . In : Delattre, J., Beaudoux ,J. L., Bonnefont-Rousselot ,D. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques.Lavoisier,Paris ,147-167.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Boussahel,S., Dahamma,S.,Ruberto,G.,Siracusa,L.,Harzallah,D.(2013).Phytochemical study and antioxidant activities of leaves extracts from *Rhamnus alaternus* L.*pharmacognosy Communications* 3 :46-47.
- ❖ Brand-Williams,W.,Cuvelier,M.,Berset,C.(1995).Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissens-chaft-und-Technologie*, 28: 25-30.
- ❖ Cadet,J.,Bellon,S.,Berger ,M.,M. ,Boudat,A.G.,Douki,T.,DUARTE,V.,et al.(2002) : Recent aspects of oxidative DNA damage ,guanosine lesions , measurements and substrate specificity of DNA repair glycosylases.*Biological Chemistry*,383,(6),93.
- ❖ Calvo, MI .and Caverro, R.Y. (2014).Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. *Journal of Ethnopharmacology* , 157 : 286-273.
- ❖ ChemliR, Dahmen M, Khaldi A; 2006). *Guides of medicinal and aromatic plants*. pp. 13-116.
- ❖ Cowan, M. M.(1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews* ,12 (4) : 564-570.
- ❖ Costantini,D.,and Moller, A.P.(2008). Carotenoids are minor antioxidants for birds. *Functional Ecology*,22 (2) :367-37
- ❖ Da Silva, S.L., Da Silva A., Honório, K.M., Marangoni , S., Toyama, M.H. et Da Silva A.B.F. (2004) . The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure*, 684:1-7.
- ❖ Davies, KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and Replacement systems. *IUBMB Life* 2000 ; 50: 279-289.
- ❖ Delattre, J., Beaudoux ,J .L., Bonneont-Rousselot ,D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris. 405p.
- ❖ Djeridane , A., Yousfi, M., Nadjemi ,B., Vidal ,N., Lesgards J. F. and Stocker P. (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research Technology* , 224: 801-809.
- ❖ Droge,W.(2002).Free Radicals in the physiological Control of Cell Fonction.*Physiological Reviews*, 82(1) : 47-95.
- ❖ El Abed, K., Trabelsi, K., Gharbia, A., Masmoudia, L., Hakim,A., Zbidi, A., and Tabkaa,Z.(2009).Cinétique des antioxydants enzymatiques au cours de la récupération

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- après le test de Wingate : étude comparative entre judokas et sédentaires. *Science et sports*, 24(6) :302-307.
- ❖ Favier, A . (1997) . Le stress oxydant : Intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problème posés par le choix d'un marqueur . *Annexe Biology Clinical* ,55(1) : 9-15.
 - ❖ Favier, A.(2003).le stress oxydant : intérêt conceptuel et experimental dans la comprehension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .*l'Actualitéchimique* .11:108-115.
 - ❖ Flores, Maeva.(2011).*Malva sylvestris L. et autres mauves de France*,Thèse pour le dipolome d'état de docteur en pharmacie,Université de NANTES Faculté de pharmacie ,pp.36-184.
 - ❖ Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel,C., and Lerverve, X.(2002).Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. *Réamination*, 11: 411.
 - ❖ Galvez, J.M., Riedl, B. et Conner, A.H. (1997). Analytical Studies on TaraTannins. *Holzforschung* ,51: 235-243.
 - ❖ Gasparetto, J.C., Martins, C.A.F., Hayashi, S.S., Otuky, M.F., Pontarolo, R.(2015).Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine.*Journal of Pharmacy and Pharmacologie* , 64 , pp.172-189.
 - ❖ Ghedira, K.,Goetz, P.(2016). *Malva sylvestris* L. (Malvaceae): Mauve. *Article in Phytotherapie*, 14:68-72.
 - ❖ Gutteridge, J.M.C.(1995).Lipid peroxydation and antioxydants as bio markers of tissue damage .*Clinical Chemistry*,41(12) :1819-1828.
 - ❖ Hadi,M.(2004).*la quercétine et ses dérivés :molécule à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libre ; étude et application thérapeutique*.Thèse de doctorat .Université Luis pasteur (Strasbourg).
 - ❖ Hallgas, B., T. Patonay, A. Kiss-Szikszai, Z. Dobos, F. Hollosy, D. Eros, L. Orfi, G. Kéri et M. Idei (2004). "Comparison of measured and calculated lipophilicity of substituted aures and related compounds." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 801(2): 229-235.
 - ❖ Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisationset potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
 - ❖ Harman, D. (1956). "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry." *J Gerontol* ,11(3): 298-300.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Harrison, D., Griending, K. K., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91, 7-11.
- ❖ Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacological Therapy*, 96 : 67 - 202.
- ❖ Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. et Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- ❖ Hubert, A.J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. *Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine*. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologique, vétérinaires, Agronomique et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p :174.
- ❖ Hussain, L., Ikram, J., Rehman, K., Tariq, M. (2014). Hepatoprotective effects of *Malva sylvestris* L. against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Turkish Journal of Biology*, 38: 396-402.
- ❖ Jaradat, N.A., Abualhassan, M., Ali, I. (2015). Comparaison of Antioxydant Activities and Exhaustive Extraction Yields between Wild and Cultivated *Cyclamen persicum*, *Malva sylvestris* and *Urtica pilulifera* Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(04) :101-106.
- ❖ Jomova, K. and Valko, M. (2011). "Advances in metal-induced oxidative stress and human disease." *Toxicology*, 283(2-3): 65-87.
- ❖ Khettal, B., Zaidi, A., Tacherfiout, M., et Sobhi, W. (2011). Effet des extraits de feuilles de *Rhamnus alaternus* à activités antioxydant et antilipasique sur la masse corporelle et le métabolisme des lipides des souris nouries avec un régime enrichie en carbohydrates. *Nutrition clinique et métabolisme*, 28 :S 149-150.
- ❖ Khlil A. (2002). [Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis] *Canada Journal of Physiology and Pharmacology*, vol 80(7), p.662-669.
- ❖ Kosalec, I., Kremer, D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese, S., Carlucci, G., Randic, M and Zovko, M. (2013). Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Food Chemistry*, 136:355-341.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. and Sripal R. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 2001; 33: 2-16.
- ❖ Lee, J., Koo, N. et Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.
- ❖ Levine, R.L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free radical Biology and Medicine*, 32: 790-796.
- ❖ Leverve, Xavier. (2009). Stress oxydant et antioxydants. Cahiers de Nutrition et de Diététique Volume 44, Issue 5, 219–224.
- ❖ Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux*. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes.
- ❖ Mamoudo, H.D., Gruppen, H., Alfred, S.T., Voragen, A.G.J., and Willem, J.H.B. (2006). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 1 (1): 21-38.
- ❖ Manach, C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. et Jimenez L. (2004). Polyphénols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747.
- ❖ Márquez-García B., Fernández M.Á. et Córdoba F. (2009). Phenolics composition in *Erica* sp. differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern Pyritic Belt. *Bioresource Technology*, 100: 446–451.
- ❖ Mezzetti A., Pierdomenico S.D., Costantini F., Romano F., Decesare D., Cuccurullo F., Imbastaro T., Riario-Sforza G., Digiacomo., Zullani G., Fellin R. (1998). Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radical Biologie and Medicine*, vol 25(6), p.676-681.
- ❖ Mighri, H., Halaoui, Akrou, A., Najjaa, H., and Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Clinical Review of Chimie* 13 :380-386
- ❖ Milane H (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. 155 p.
- ❖ Mobile Reference. *The Illustrated Encyclopedia of Trees and Shrubs: An Essential Guide To Trees and Shrubs of the World*. Ed. Mobile Référence, 2008, p. 5205.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Molyneux,P.(2004).The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl(DPPH') for estimating antioxidant activity Song klanakaran. *Journal of Sciences and Technologies*.26 (2) :211-219.
- ❖ Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Boelens P.G., Norren K., et Leeuwen P. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418-425.
- ❖ Nkili,N. 2009 . *polyphénols l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant*. Thèse de doctorat. Université de Marrakech.187-193.
- ❖ Owen,P.L. ,and Johns T.(1999) :Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout .*Journal of ethnopharmacologie* ,64/149-160.
- ❖ Oyaizu,M.(1986).Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition* ,44 :307-315.
- ❖ Pasquier C.(1995).Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*. 276: 87-92.
- ❖ Pietta P.G. (2000).Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63 : 1035-1042.
- ❖ Pincemail,J., Meurisse,M., Limet, R., and Defraigne, J.O.(1998). Fumée de cigarette : une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées .*Medi Sphère*,78 :37-39.
- ❖ Pirbalouti AG, Yousefi M, Nazari H, Karimi I, Koochpayeh A (2009).Evaluation of burn healing properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris*. *Electr J Biol* 5: 62–66.
- ❖ Rameau D, Mansion G, Dumé C (2008). Flore forestière française, guide écologique illustré, région méditerranéenne, ministère de l'agriculture et de la pêche. P 2426.
- ❖ Rasavi, M.S.,Zarrini,G.,Molavi,G.,Ghasmi,G.(2011). Bioactivity of *Malva Sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* ,14(06) :574-579.
- ❖ Ribéreau-Gayon P.(1968).Les composés phénoliques des végétaux.Edition Dunod,Paris,pp 254.
- ❖ Ribéreau-Gayon ,J.,Peynaud,E.,Sudraud,P et Ribéreau Gayon,p.(1982) .Composés phénoliques,In Traite d'œnologie,sciences et technique du vin .Paris :Dunod.477-499.

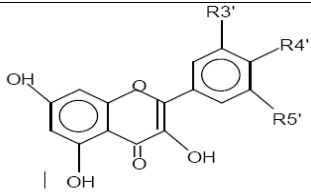
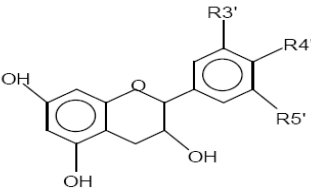
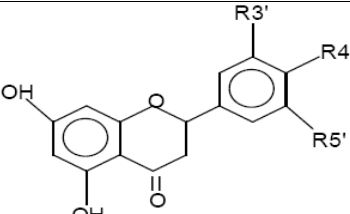
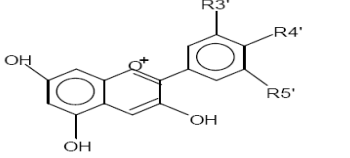
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Ricciardolo F.L.M., Sterk P.J., Gaston B., et Folkers G. (2004). Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiological Reviews*. 84 :731-765.
- ❖ Rice-Evans C.A., Miller N. et Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity
- ❖ Said, O., Khalil, K., Fulder, S. et Azaizeh, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the west bank region. *Journal of Ethnopharmacology*, 83 :251-265.
- ❖ Sartori-Thiel, A. (2003). "Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols." *Science et Agronomie ED 380* Doctorat: 177.
- ❖ Stentz f.b., umpierrez g.e., cuervo r., kitabchi a.e. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes* ., 2004, vol 53(8), p.2079-286.
- ❖ Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *Journal of Physiology*, 2003 ; 552 :335-344.
- ❖ Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." *International Journal of Biochemical Cell Biology* 39(1): 44-84.
- ❖ Valko, M., Rhodes, C.J., Izakovic, M. et Mazur, M. (2006). Free radical, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160 :1.40
- ❖ Virgili F., Scaccini C., Packer L. et Rimbach G. (2001). Antioxidants and health : Cardiovascular disease and nutritional phenolics. In « Antioxidants in Food Practical Applications ». Ed. *CRC Press LLC, North and South America*. p p : 87-96.
- ❖ Wolters, M., Hermann, S., Golf, S., Katz, N., Hahn, A. (2005). Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *European Journal Clinical Nutrition*, vol 24.
- ❖ Xu, Y.C., Leung, S.W.S., Yeung, D.K.Y., Hu., Chen, G.H., Che, and Man, R. Y. K. (2007). Structure-activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytotetapie*, 9 :209-218.
- ❖ Yap, C.F., HO, C.W., Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y. and Leong, Y.S. (2009). Optimization of extraction condition of total phenolic compounds from star fruit (*Averrhoa carambola L*) residues. *Sains malaysiana*, 38(4) :511-520.

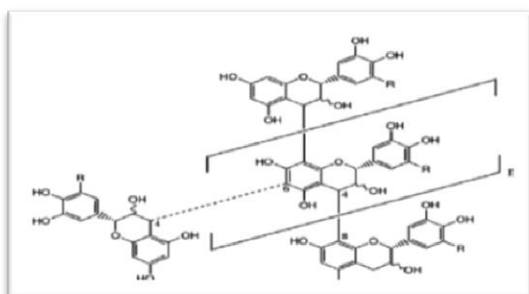
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

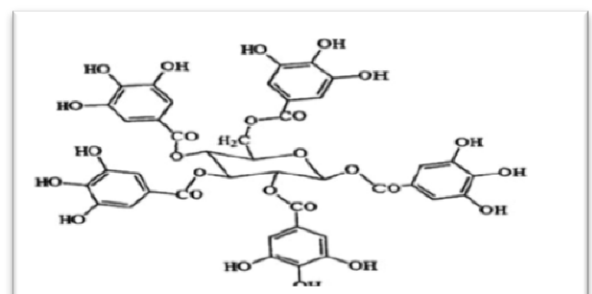
Annexe 1 : Représentation des principales classes des flavonoïdes .

flavonoïde	Structure chimique	exemples
Flavonols		Quercétine Kaempferol Myricétine
Flavanols		Catéchine
Flavanones		Naringénine Eriodictyol
Anthocyanidines		Cyanidine Delphénidine

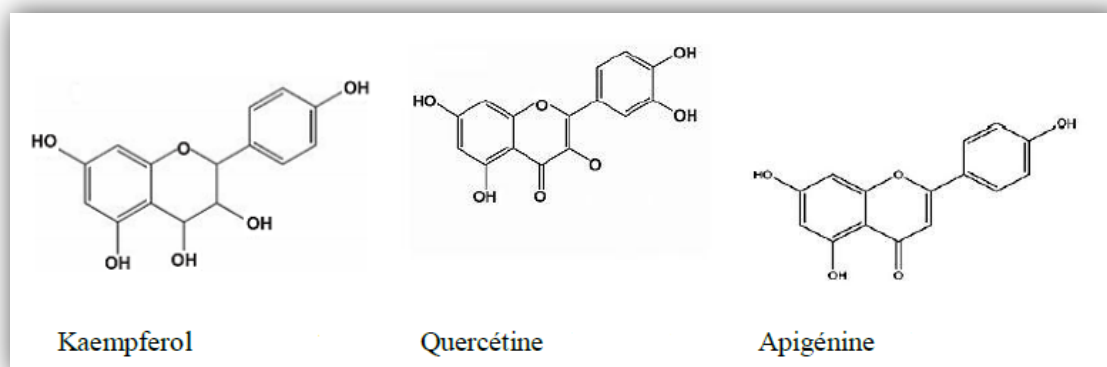
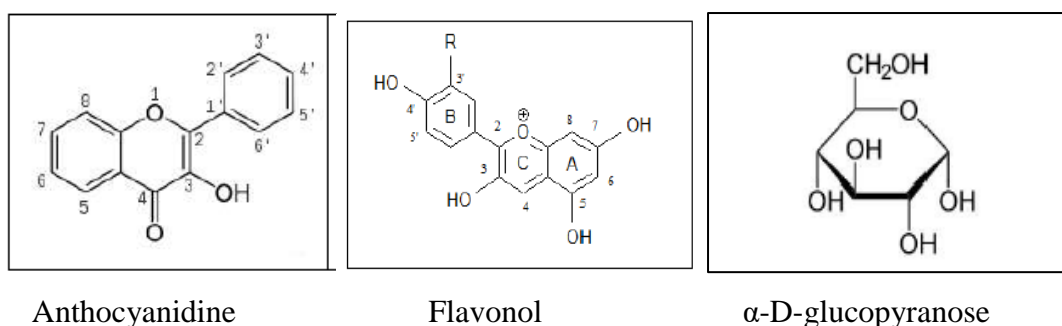
Annexe 2 : Les deux grands groupes des tannins.



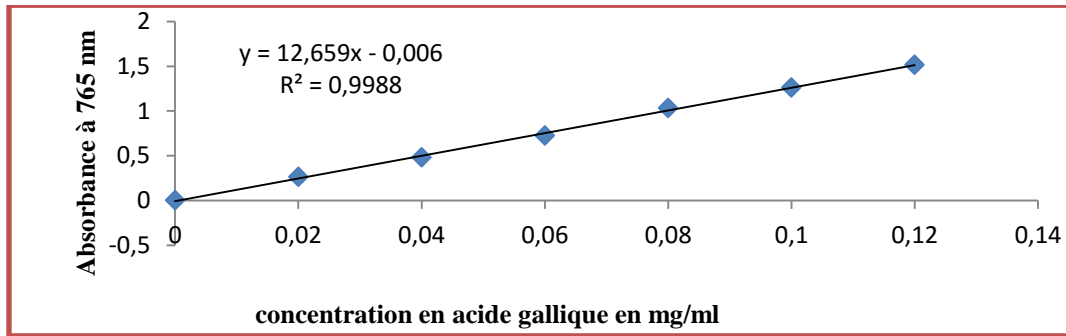
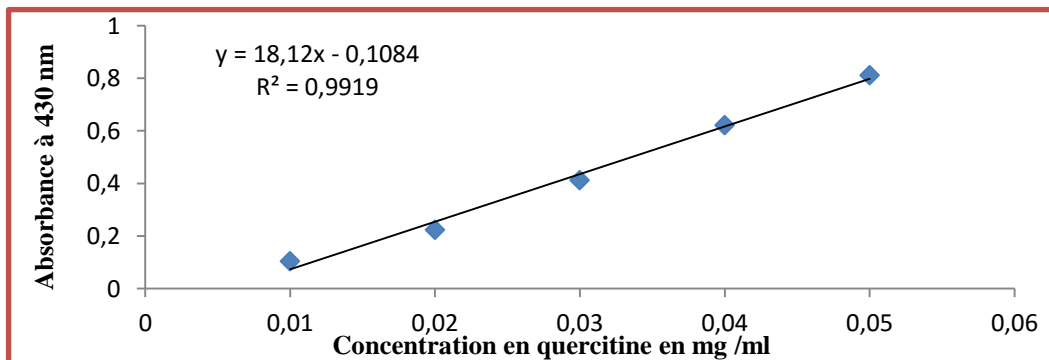
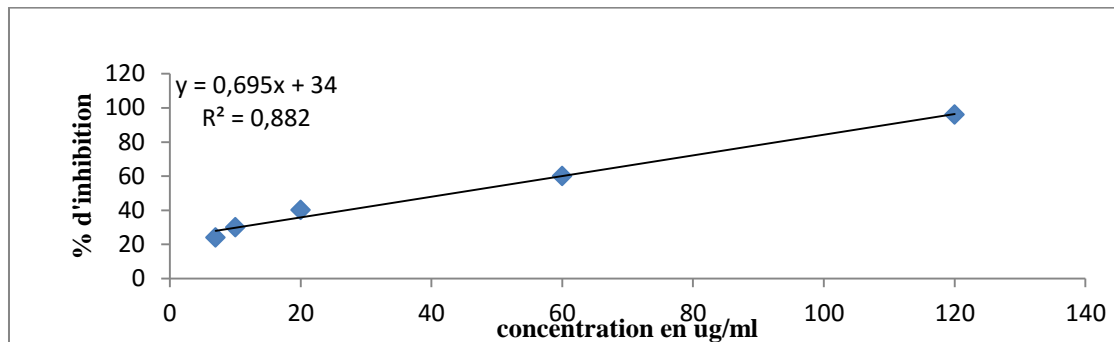
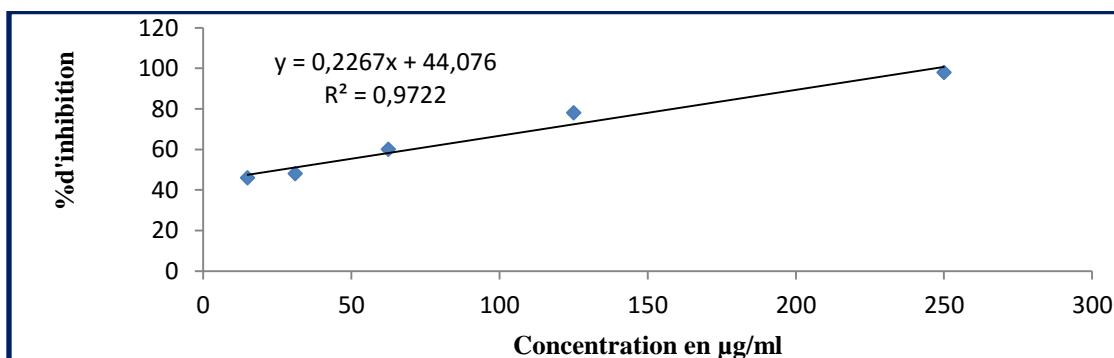
Tannins condensés

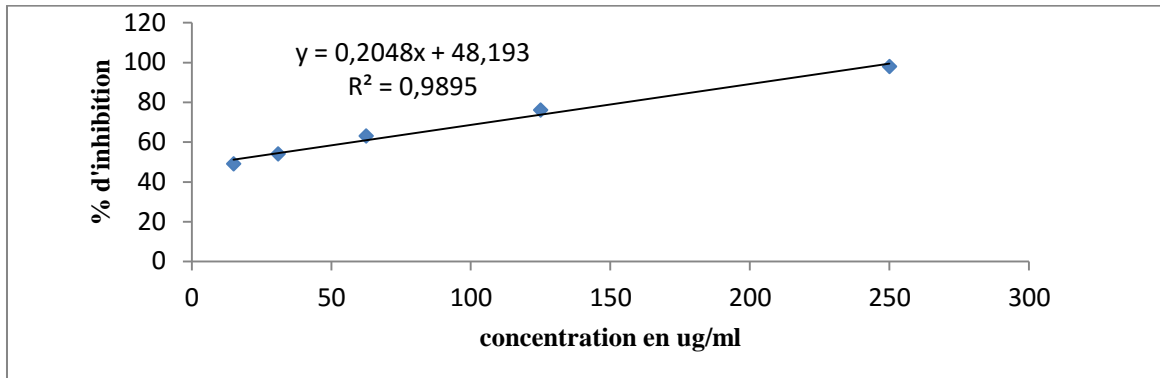
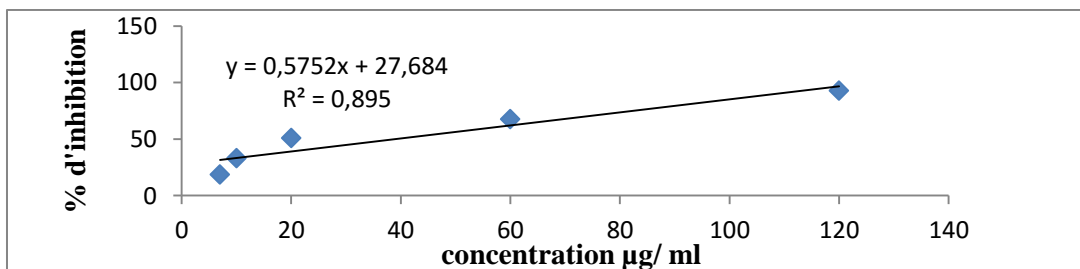
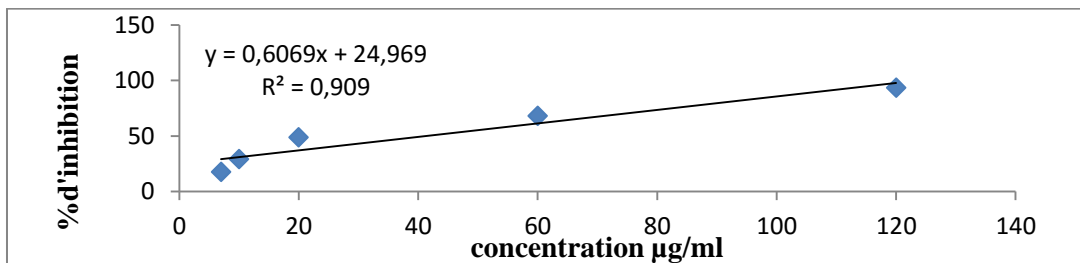
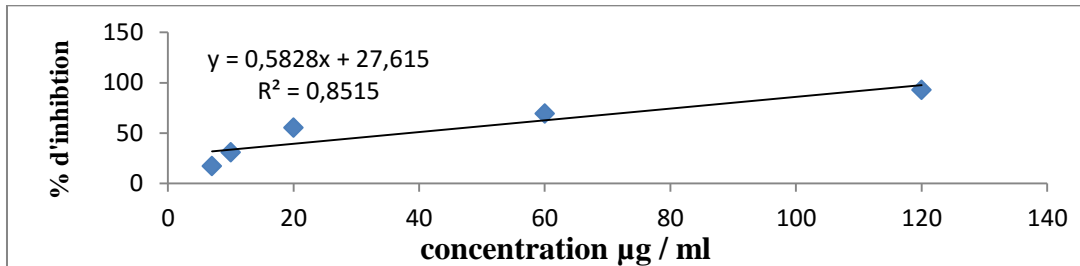


Tannins hydroxylés

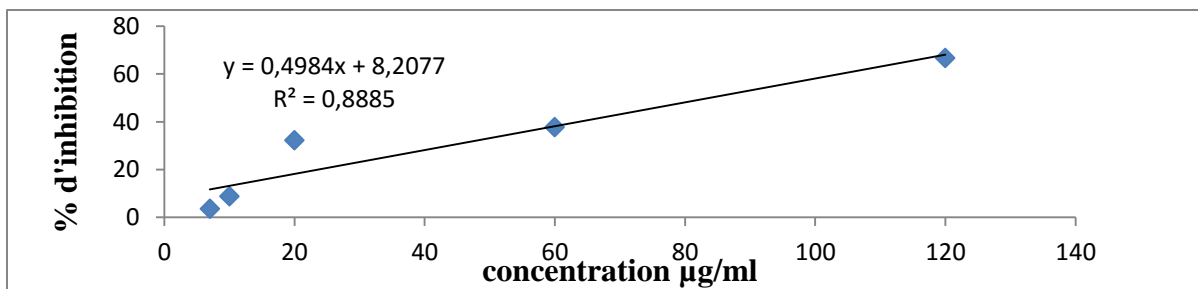
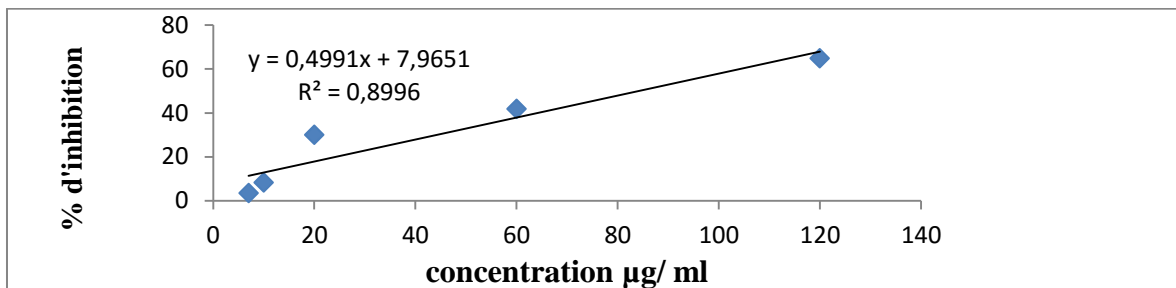
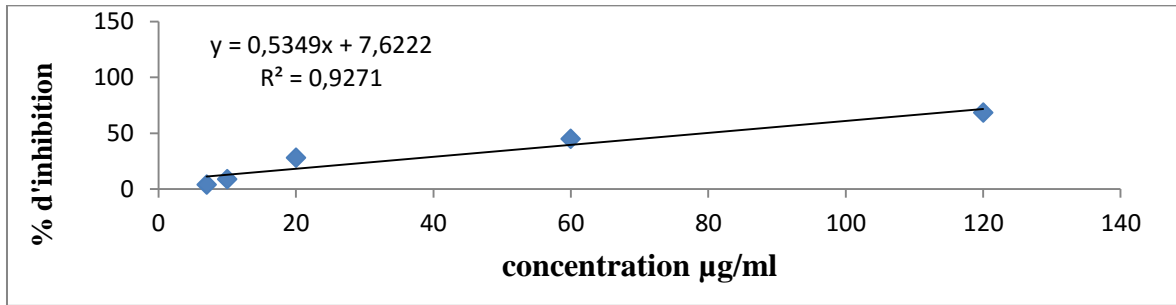
Annexe 3 : Structure chimique de quelques flavonoïdes de *R.alaternus***Annexe 4:** Structure chimique de quelques composés chimiques de *M.sylvestris*.**Annexe 5 :** Matériel et Réactifs utilisés

Matériel	Réactifs
-Broyeur Electrique	-Solvants organiques : éthanol,n-butanol,eau distillée
-Tamis	
- Balance de précision (BP 310 P)	-Acide trichloroacétique à 10 % (TCA)
- Etuve (BINDER)	- chlorure d'aluminium (AlCl ₃)
- Plaque magnétique (MULTISTIRRER)	- Carbonate de sodium
-Rotavapor(Heidolph)	- Chlorure ferrique FeCl ₃ (0.1%)
- Bain marie (MEMMERT)	- DPPH
-Centrifugeuse(CentrionScientific)	- sel ABTS
- pH mètre (BT675)	- Ferricyanure de potassium [K ₃ Fe (NC) ₆]
- Spectrophotomètre UV-VIS (Spectroscan 50v)	-K ₂ HPO ₄ et KH ₂ PO ₄
	-persulfate de potassium(K ₂ O ₈ S ₂)
	- Réactif de Folin-Ciocalteu (2 N)
	-Standards : Acide gallique, Quercetine ,Trolox

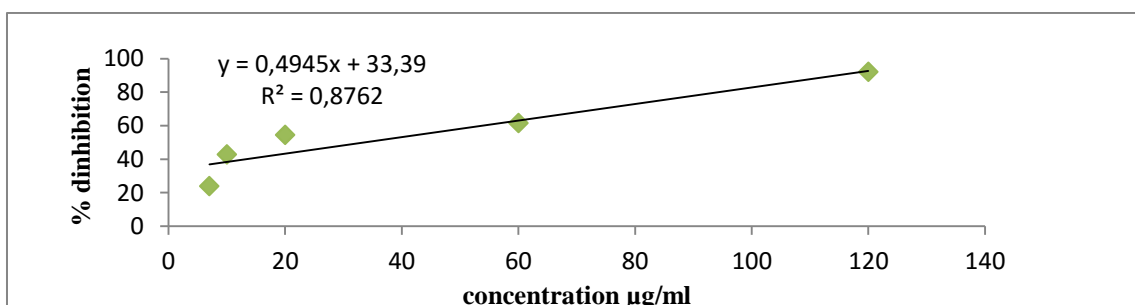
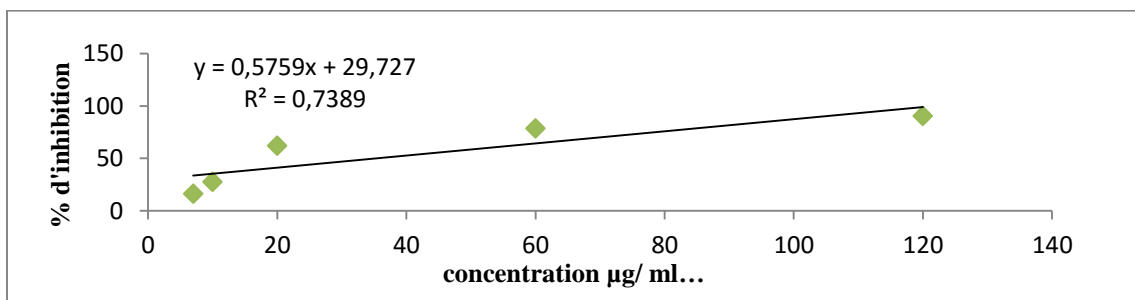
Annexe 6: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.**Annexe 7 :** La courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.**Annexe 8 :** Variation de l'inhibition du DPPH[•] de la quercétine.**Annexe 9:** Variation de l'inhibition du DPPH[•] de l'acide gallique .

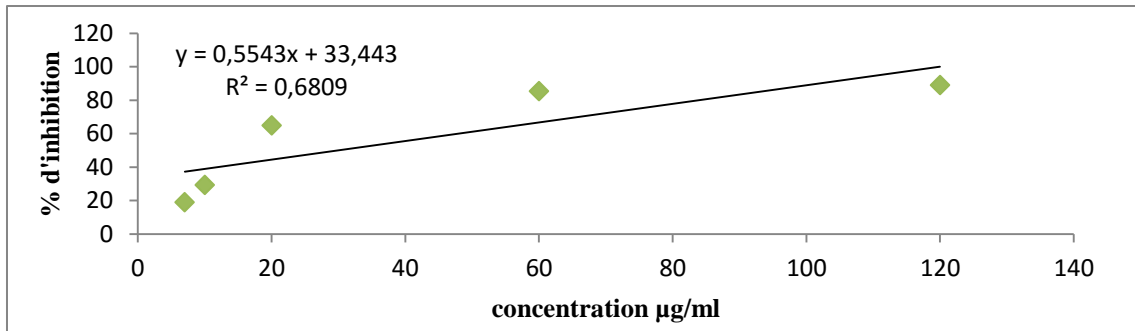
Annexe 10 : Variation de l'inhibition du ABTS⁺ de Trolox .**Annexe 11** : Variation de l'inhibition du DPPH[·] pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase éthanolique.

Annexe 12 : Variation de l'inhibition du DPPH' pour les trois essais en fonction de la concentration de *M.sylvestris* pour la phase éthanolique.

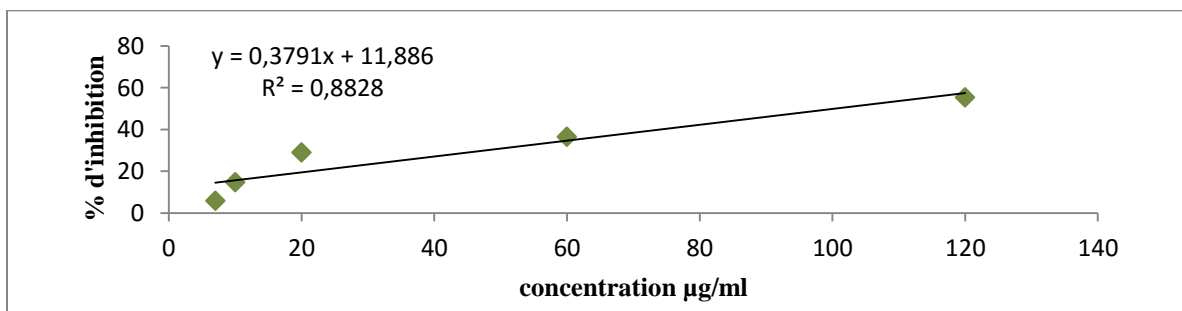
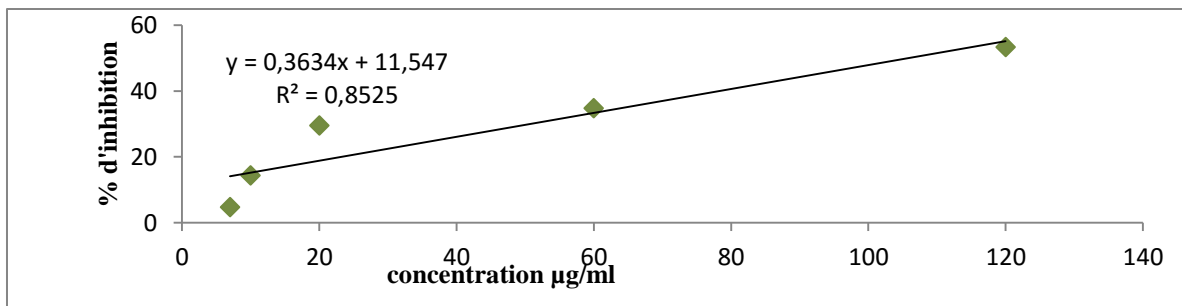
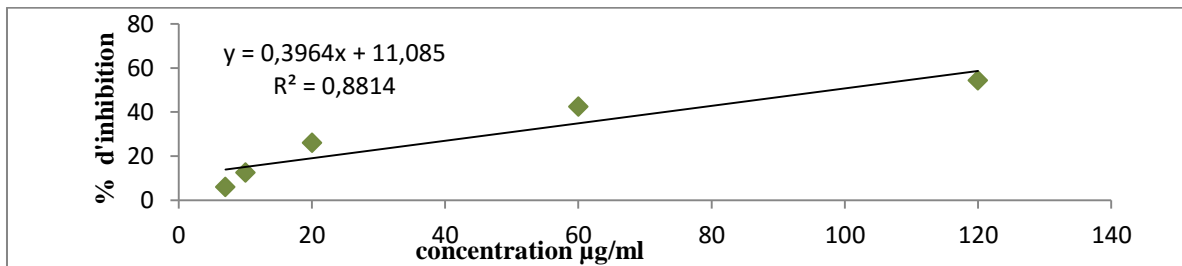


Annexe 13 : Variation de l'inhibition du DPPH' pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase n-butanolique.

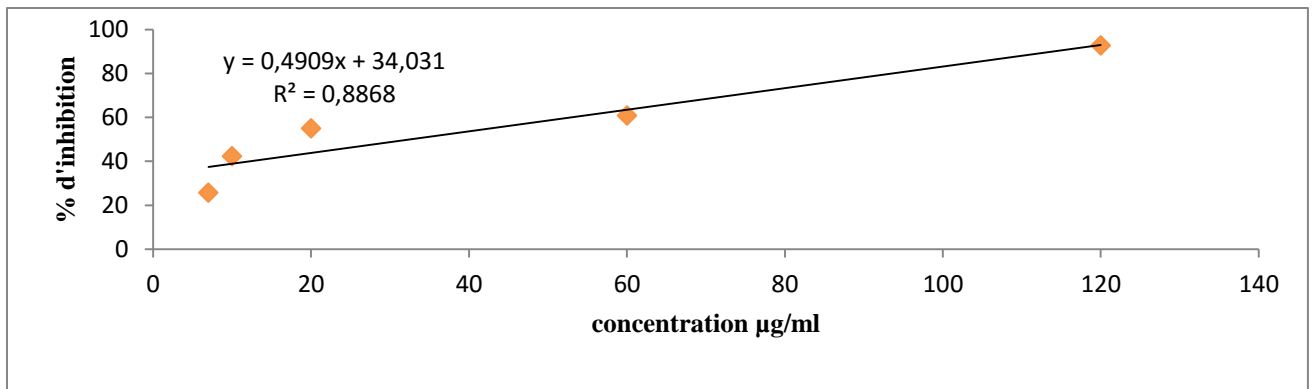
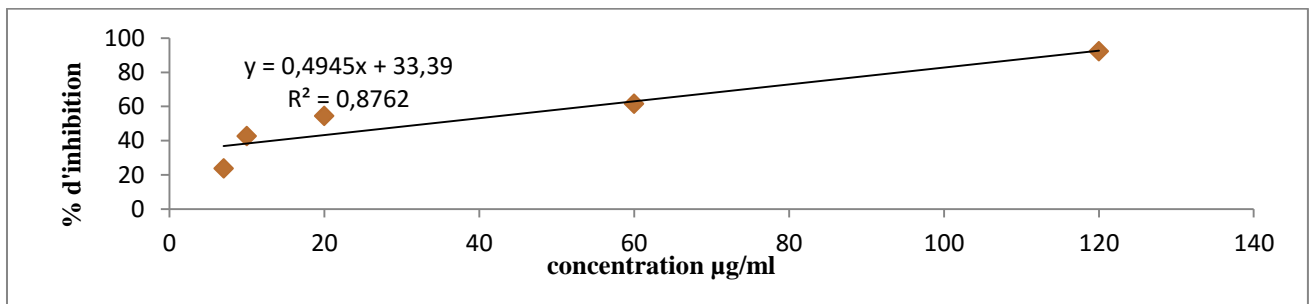
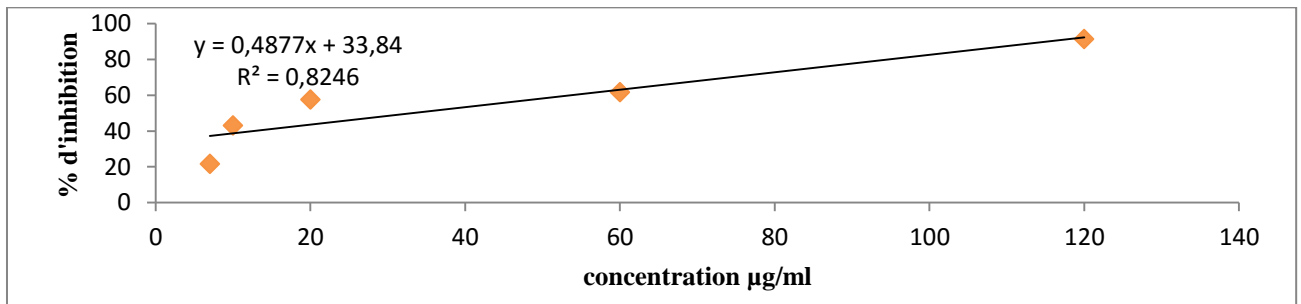




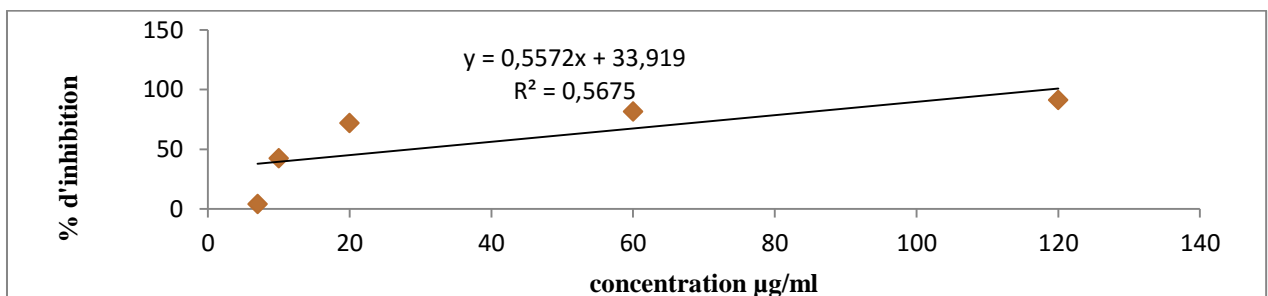
Annexe 14 : Variation de l'inhibition du DPPH' pour les trois essais en fonction de la concentration de *M.sylvestris* pour la phase n-butanolique.

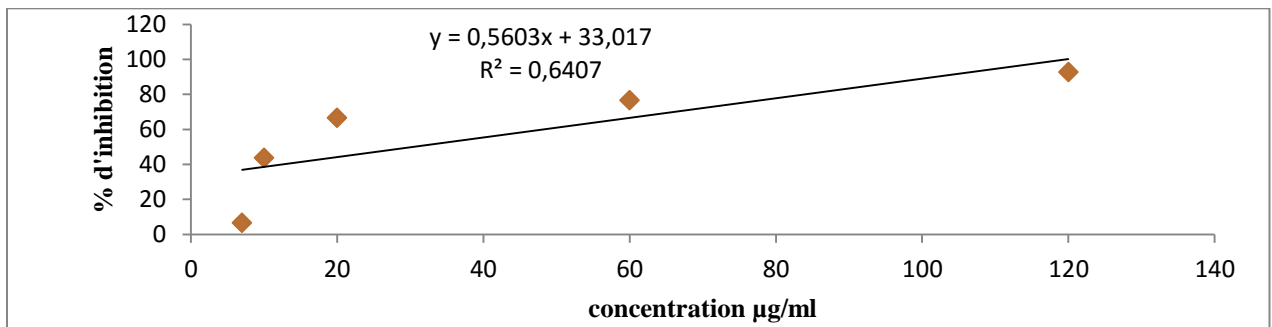
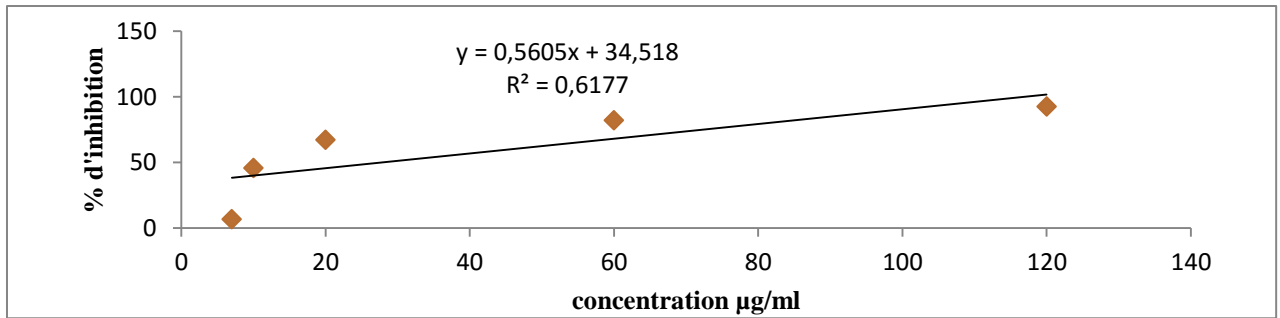


Annexe 15 : variation de l'inhibition du DPPH pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase aqueuse.

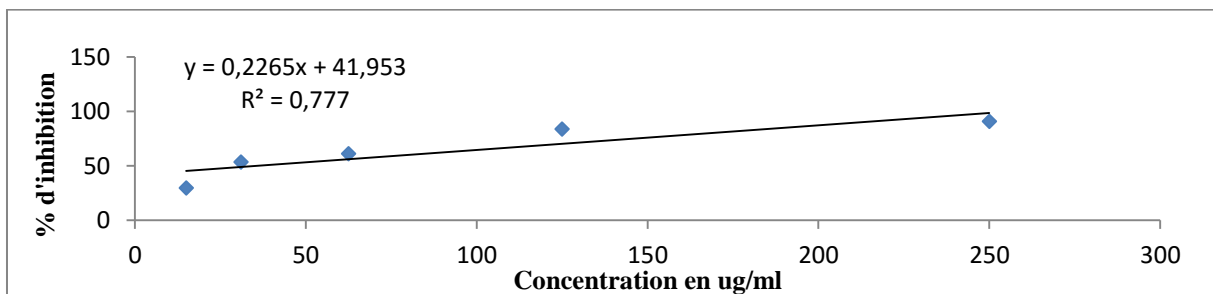
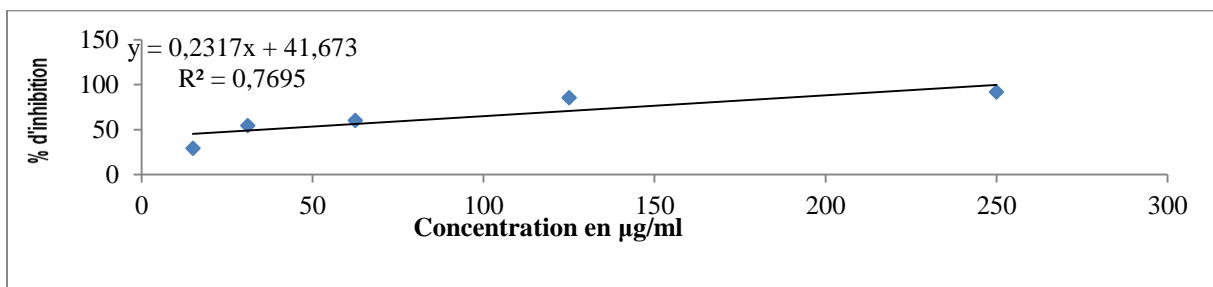
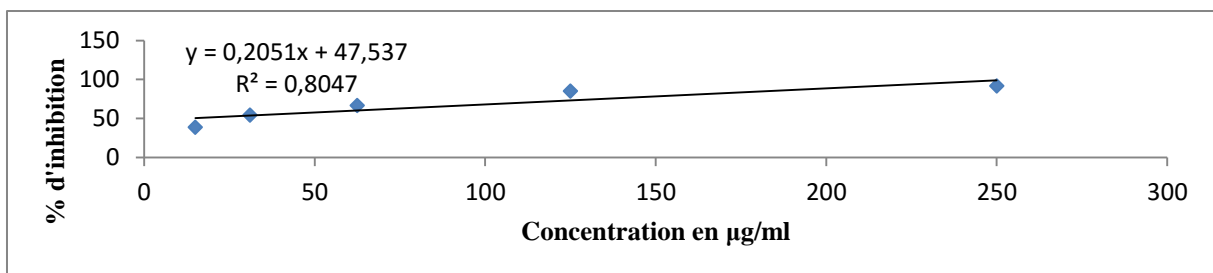


Annexe 16 : Variation de l'inhibition du DPPH pour les trois essais en fonction de la concentration de *M.sylvestris* pour la phase aqueuse.

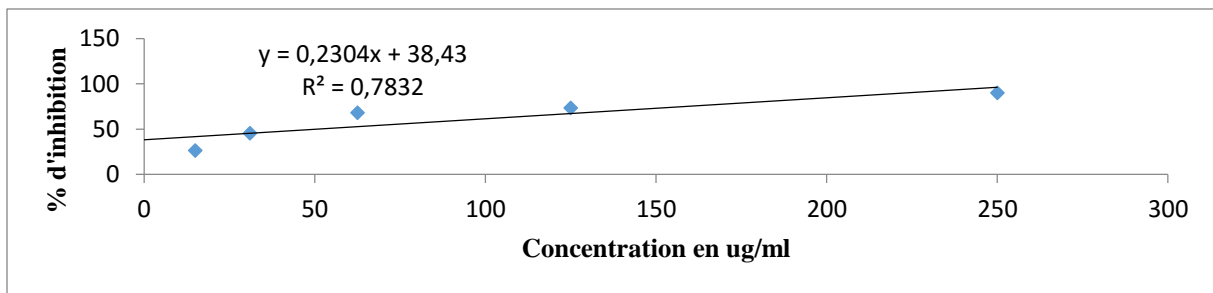
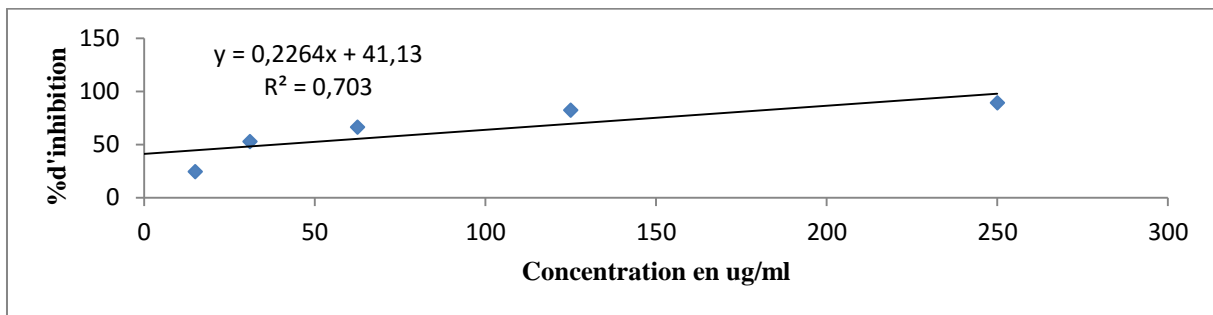
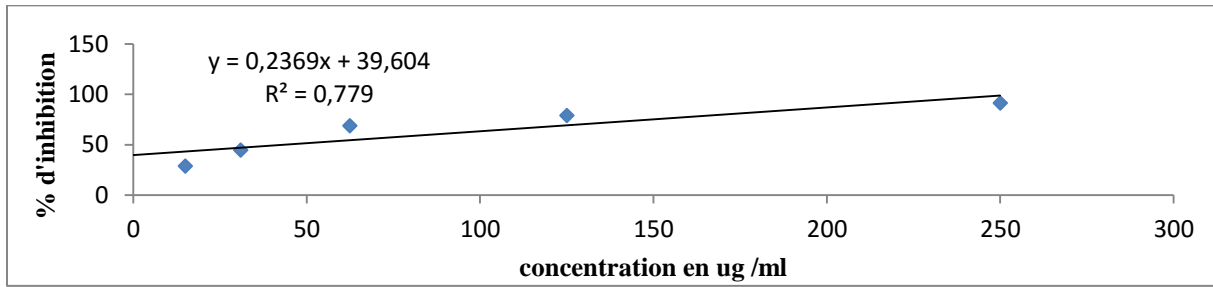




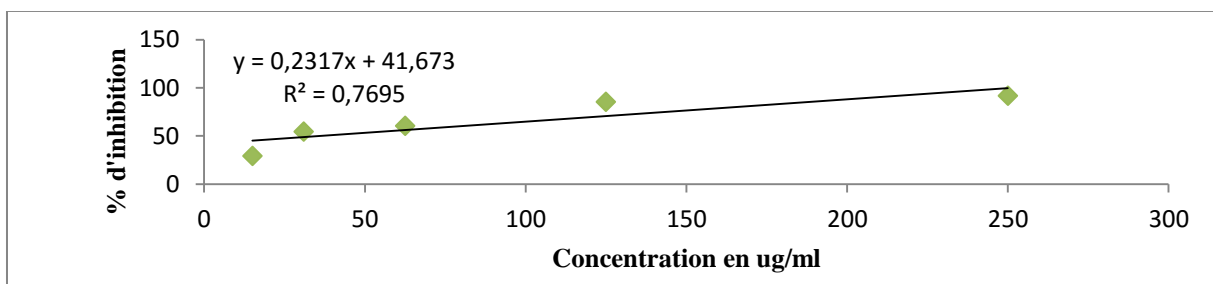
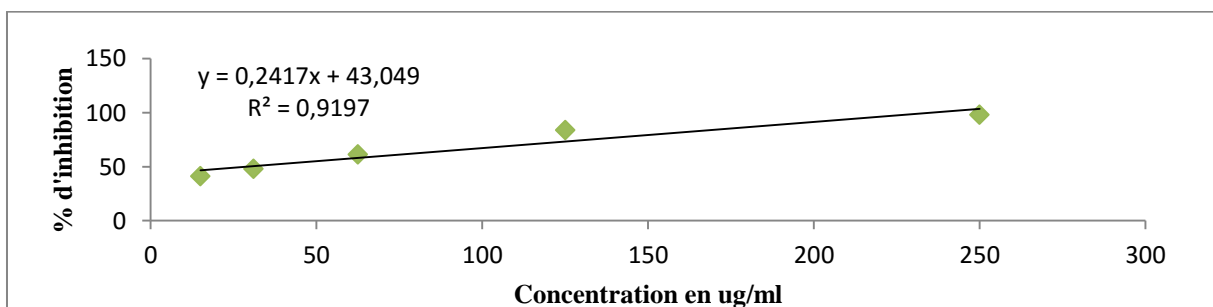
Annexe17 : Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS⁺ pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase éthanolique.

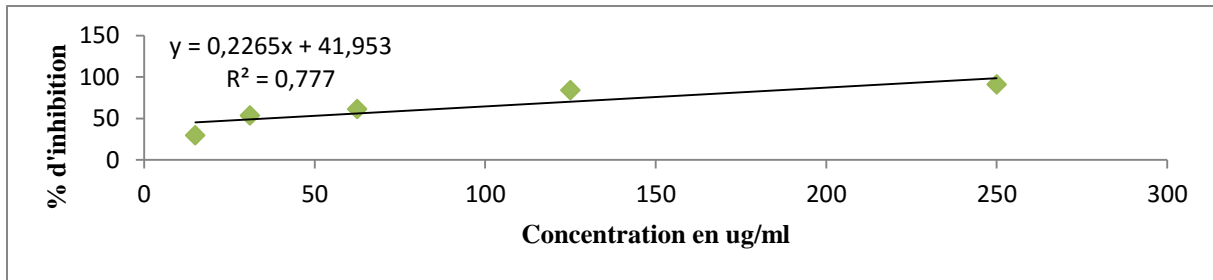


Annexe 18 : Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS^{•+} pour les trois essais en fonction de la concentration de *M.sylvestris* pour la phase éthanolique.

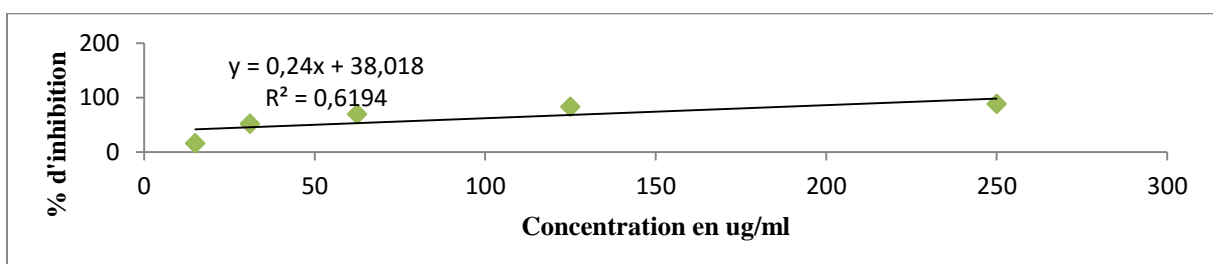
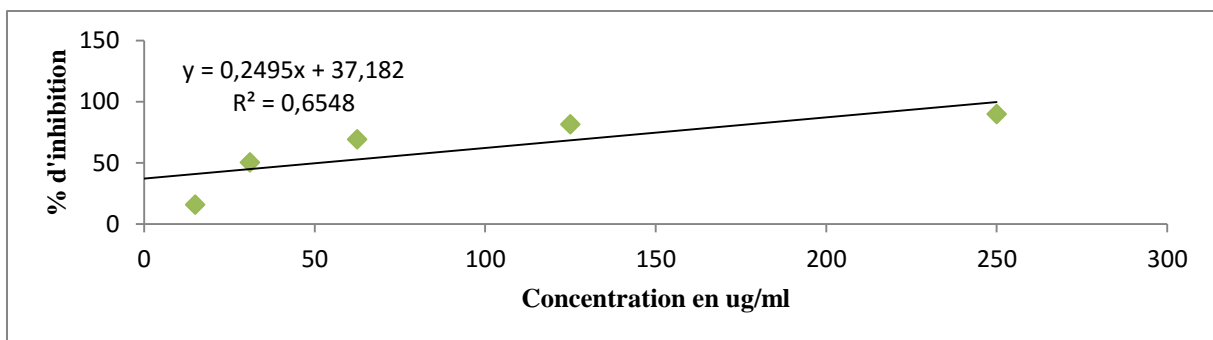
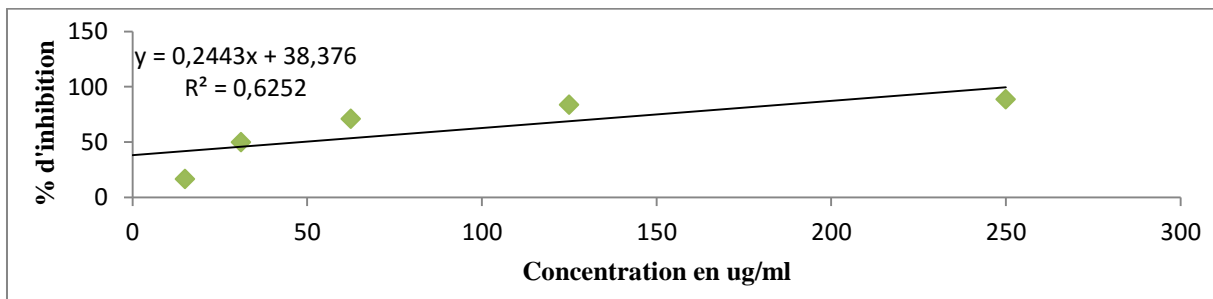


Annexe 19: Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS^{•+} pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase n-butanolique.

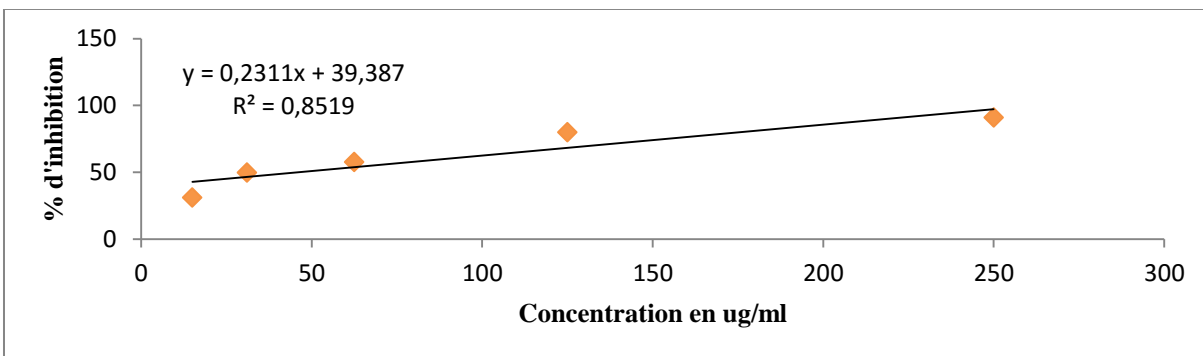
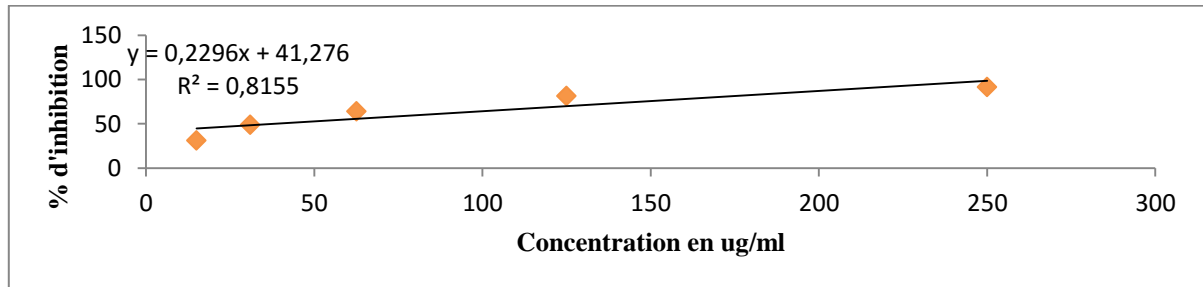
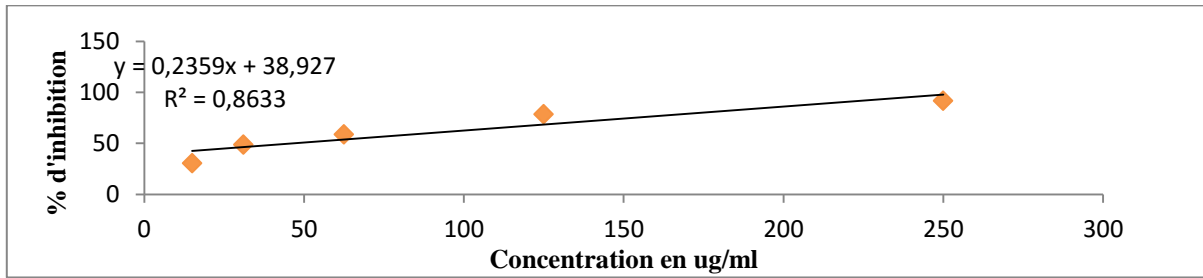




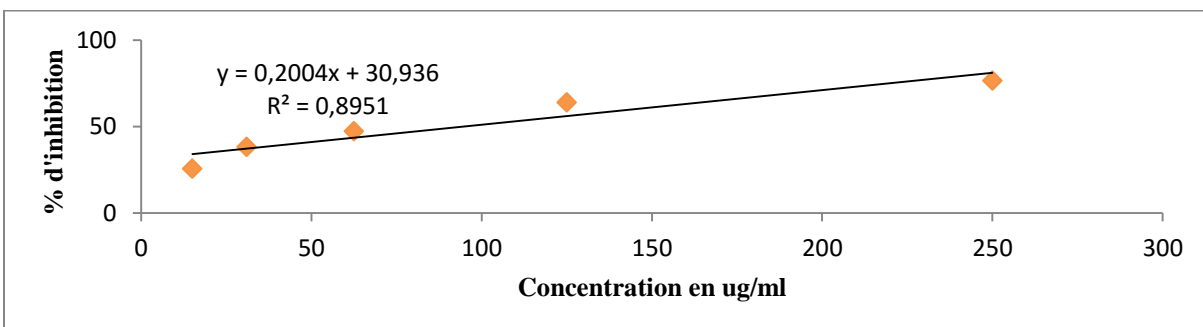
Annexe20 : Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS⁺ pour les trois essais en fonction de la concentration de *M. sylvestris* pour la phase n-butanolique.

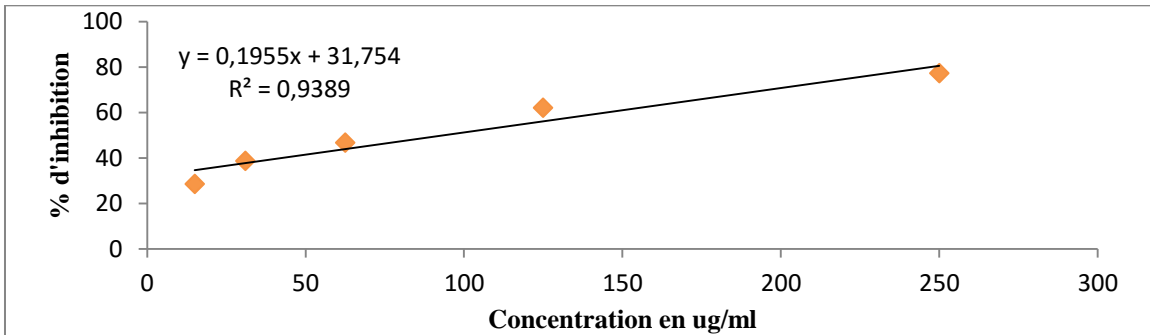
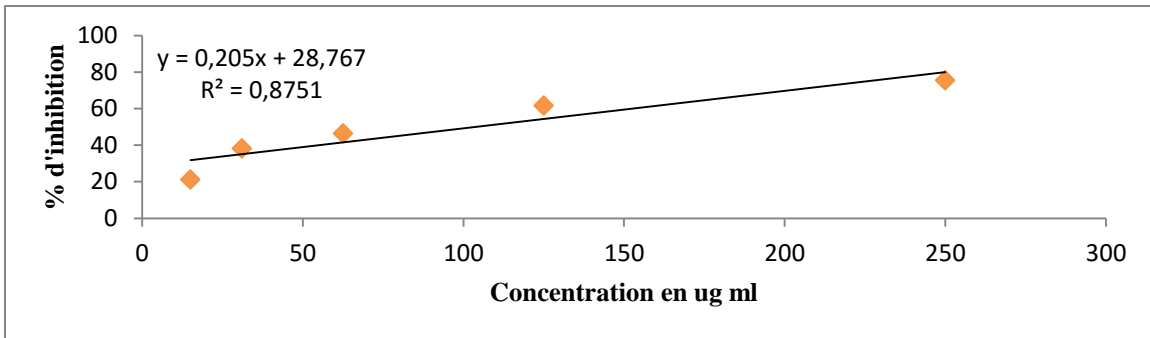


Annexe21 : Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS⁺ pour les trois essais en fonction de la concentration de *R.alaternus* pour la phase aqueuse



Annexe 22: Variation de l'activité scavenging contre l'ABTS⁺ pour les trois essais en fonction de la concentration de *M.sylvestris* pour la phase aqueuse.





Résumé

Rhamnus alaternus.L et *Malva sylvestris*.L sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle reconnues par leurs vertus thérapeutiques.

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols obtenus à partir des extraits de la partie aérienne de *M. sylvestris* et *R. alaternus* vis-à-vis du radical ABTS⁺, DPPH[·] et le pouvoir réducteur.

La partie aérienne a soumis une macération dans l'éthanol suivi par le n-butanol et l'eau distillée. Les rendements de *R.alaternus* étaient de : 15%, 30.84 %, 23.28 % et *M.sylvestris* de : 4.5%,23%, 30.84% pour les extraits EOH, n-But et Aq respectivement. Les résultats obtenues indiquent que *R.alaternus* et *M. sylvestris* ont présentées la plus grande teneur en polyphénols et en flavonoïde dans l'extrait éthanolique (34.75±0,071 et 19.63±2,3) mg Eq AG /g d'extrait pour *R.alaternus* et (29.82±1,65 et 19.52±2,27) mg EQ/g d'extrait pour *M. sylvestris* respectivement.L'étude quantitative a révélé que l'extrait aqueux de *M. sylvestris* et l'extrait butanolique de *R. alaternus* présentent des CI50 plus efficaces avec 28.96±1,34µg/ml et 32.92±2,75µg/ml respectivement vis à vis du radical DPPH[·].Pour le test d'ABTS, il a été constaté que l'extrait éthanolique de *R. alaternus* et *M.sylvestris* représente un potentiel antiradicalaire le plus important avec des CI50 de (27,81±13,69 et 44.42 ±5,53) µg/ml respectivement .Pour le pouvoir réducteur, nous avons constatés que la capacité la plus élevée pour *R.alaternus* a été obtenue avec l'extrait butanolique (0.899).cependant, pour *M.sylvestris* l'extrait éthanolique a exhibé le pouvoir réducteur le plus important qui est de 0.873.

Mots clés: Polyphénols, flavonoïdes, *Rhamnus alaternus L.*, *Malva sylvestris L.*, activité antioxydante.

Abstract

Rhamnus alaternus L. and *Malva sylvestris L.* are plants used in traditional medicine recognized by their therapeutic properties.

The aim of our study is the evaluation of the antioxidant activity of the polyphenols obtained from extracts of the aerial part of *M. sylvestris* and *R. alaternus* vis-à-vis the ABTS radical⁺, DPPH[·] and reducing power.The aerial part submitted maceration in ethanol followed by n-butanol and distilled water. *R.alaternus* yields were 15%, 30.84%, 23.28% and *M.sylvestris* of: 4.5%, 23%, 30.84% for EOH,n-but and Aq extracts respectively.The results obtained indicate that *R.alaternus* and *M. sylvestris* have presented the higher content of polyphenols and flavonoids in the ethanol extract (34.75 ± 0.071 and 19.63 ± 2.3) mg Eq AG / g of extract to *R. alaternus* and (29.82 ± 1.65 and 19.52 ± 2.27) mg EQ / g of extract to *M. sylvestris* respectively.

The quantitative study found that *M. sylvestris* aqueous extract and butanol extract of *R. alaternus* have more effective with IC50 28.96 ± 1,34µg / ml and 32.92 ± 2,75µg / ml respectively with respect to the DPPH[·] radical.for ABTS test, it was found that the ethanolic extract of *R. alaternus* and *M.sylvestris* represents an antiradical potential with the largest of IC50 (27.81 ± 13.69 and 44.42 ± 5.53) µg / ml respectively .For the reducing power, we observed that the highest capacity for *R.alaternus* was obtained with the butanol extract (0.899) .but for *M.sylvestris* the ethanol extract exhibited the power the most important gear that is 0.873.

Key words: polyphenols, flavonoids, *Rhamnus alaternus L.*, *Malva sylvestris L.*, antioxidant activity.

ملخص

مليس (*Rhamnus alaternus L.*) و الخبازة البرية (*Malva sylvestris L.*) هي نباتات مستخدمة في الطب التقليدي معروفة بخصائصها العلاجية، والهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمادة البوليفينول التي تم الحصول عليها من مقتطفات الجزء الهوائي للنبتين في تثبيط الجذر الحر ABTS+ ، DPPH· والقوة الأرجاعية.

قدم الجزء الهوائي المنقع في محلول الإيثانول و البيوتانول والماء المقطر لنبته *R.alaternus* النسب التالية 15%، 30.84% و 23.28% على التوالي، أما بالنسبة لنبته *M. sylvestris* فكان المردود يقدر ب 30.84%، 23% و 4.5% على التوالي. النتائج المتحصل عليها تشير إلى أن *R.alaternus* و *M. sylvestris* قد قدمت المحتوى العالي من مادة البوليفينول والفلافونويد في مستخلص الإيثانول (0.071 ± 34.7 و 2.3 ± 19.63) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من مستخلص *R.alaternus* (29.82 ± 1.65 و 19.5 ± 2.27) ملغ مكافئ حمض الكرسيتين/غ من مستخلص *M. sylvestris* . وجدت الدراسة الكمية ان المستخلص المائي ل *M. sylvestris* و مستخلص البيوتانول ل *R.alaternus* أكثر فعالية مع IC_{50} 28.96 ± 1.34 و 2.75 ± 32.92 ميكروغرام/ملل على التوالي ضد ال DPPH·. أما بالنسبة لاختبار ABTS فقد قدم مستخلص الإيثانول لكلا النبتتين النشاط المضاد للأكسدة مع أكبر قيم ل IC_{50} (5.53 ± 44.42) و 13.69 ± 27.81 . بالنسبة لقوة إرجاع الحديد، لاحظنا ان أعلى نسبة ل *R.alaternus* موجودة في مستخلص البيوتانول (0.899)، أما بالنسبة ل *M. sylvestris* المستخلص الكحولي يمثل أعلى نسبة إرجاعية تقدر 0.873.

الكلمات الرئيسية:

البوليفينول ، الفلافونويد ، *Rhamnus alaternus L.* ، *Malva sylvestris L.* ، النشاط المضاد للأكسدة