

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

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



Réf :.....

Mémoire de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Évaluation de l'activité antioxydante et
l'effet inhibiteur de la peroxydation
lipidique de quelques plantes
médicinales.**

Présenté par :

BOUDJEMAI Adada & SAYAD Farida

Soutenu le : **13 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M. BASLI Abdelkader	MAA	Président
M. BELKACEM Nassim	MAB	Encadreur
M. BOUADAM Said	MAA	Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribués à notre formation

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promoteur,
M. BEKACEM Nassim,

Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et
Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de
Ce modeste travail.

Nous voudrions aussi exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à tous le
personnel

Existés pendant le travail en laboratoire d'enzymologie

Pour leurs orientations, leurs conseils et leurs disponibilités tout au long de la
réalisation de notre travail.

Nous remercions M. BASLI Abdelkader pour avoir accepté de présider le jury et
pour ces précieux conseils et M. BOUADAM Said d'avoir accepté de juger notre
modeste travail et aussi pour ces précieux conseils.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

DEDICACES

À Ceux qui sont les plus chères au monde, mes parents que dieu
les protège :

En témoignage de mes profondes affectations. Qu'ils sachent
que ce travail est en partie

Le fruit de leurs soutien ; je leurs suis très reconnaissante. Leurs
fiertés à moi

Égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

À mes tendres sœurs : Fazia, leila, Nassima, Kafia et ma petite
sœur Zahia(Noucha)

À mon frère Karim et à sa femme Nassima

À ma sœur Saida et son époux

À ma tante Louiza que dieu la garde

À mes nièces (Djidji, wassila et nesrine)

À mes neveux (Samir, Madjid, Belkacem et Salim)

Qui sont très chères.

À mon fiancé Hocine à qui je souhaite tous le bonheur du monde,
pour ses sacrifices, patience et surtout son soutien et
encouragement.

À toute ma belle famille

À mes copines (Lydia, Zahra, Lissa, Saida, Siham et Assia)

À ma binôme et à toute sa famille.

À tous mes amis et à tous ceux Qui m'ont témoigné leur
affectation et leur soutien durant Ces longues années.

Adada

DEDICACES

À Ceux qui sont les plus chères au monde, mes parents que dieu
les protège :

En témoignage de mes profondes affectations. Qu'ils sachent
que ce travail est en partie
Le fruit de leurs soutien ; je leurs suis très reconnaissante. Leurs
fiertés à moi

Égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

À ma tendre sœur : Lydia

À mes frères : Halim, Adel et zinddine

À mes frères farid et saad et leurs femmes

À ma soeur Dahbia et son époux

À mes nièces (Zhira, Zahoua et Eldjida)

À mes neveux (Islam, boualem et louanes)

Qui sont très chères.

À mon oncle Lkhal et sa femme Fatiha

À mes cousines Salima, Nassima et Souad, Ghania et leurs époux
et leurs enfants.

À mes cousines Hassina et Djamila

À mes cousins Samir et Abderrahime leurs femme et ses enfants
et Farouk et sa femme.

À mon cousin Abdelghani

À la mémoire de mon oncle M. Akli

À ma tante Zahia et ses enfants

À mes amis (es) (Yacine, Farhat, Lynda, Fifi, Manel et Amel)

À ma binôme et à toute sa famille.

À tous mes amis et à tous ceux Qui m'ont témoigné leur
affectation et leur soutien durant Ces longues années.

Farida

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs: Absorption

ABTS: 2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

ADN : Acide ribonucléique

AGMI : Acide gras monoinsaturé

AGPI : Acide gras poly-insaturé

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

BHA: Butylated hydroxyanisole

CYP450 : cytochromes de type

CI50 : Concentration Inhibitrice 50

D.O : Densité optique

DPPH : 2, 2-diphénylpicrylhydrazyl

DPPH• : radical 1,1-Diphényl-2 picrylhydrazyl

EAG/g.MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

ERO : Espèces réactives de l'oxygène ou oxygénées

EMeOH : Extrait méthanolique

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

I%: pourcentage d'inhibition

K₂S₂O₈ : persulfate de potassium

LOOH : hydroperoxyde

MeOH : Méthanol

mg EAG/g E: milligramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

mg EQ/g E : d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait.

Min: minute

ml : millilitre

mM millimolaire

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

nm: nanometer

NH₂ : groupements amines

NO• : Oxyde nitrique

O^{•-2}: Radical anion superoxide

OH•: Radical hydroxyl

ONOO• : Radical peroxydinitrite

R : rendement

R² : Coefficient de corrélation

LISTE DES ABREVIATIONS

RO• : radical alcoyle

ROO• : radicaux libres peroxylés

ROS: Reactive oxygen species

TCA: Acide trichloroacétique

Trolox: 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

UV: Ultraviolet

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

% : Pourcentage

Figure 01: Quelques photos d'*Agave americana*. (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs03

Figure 02 : Quelques photos d'*Ajuga iva*. (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs.....03

Figure 03 : Quelques photos d'*Aloe vera*. (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs.....05

Figure 04 : Quelques photos de *Citrus limon*. (A) les fruits, (B) la plante entière, (C) les fleurs et les feuilles.....06

Figure 05:Quelques photos de *Fraxinus angustifolia*. L'arbre entier (A), les feuilles de *Fraxinus angustifolia* (B), arbre pendant la période de florescence(C)..... 08

Figure 06 : Quelques photos d'*Inula viscosa*. La plante entière (A), les feuilles d'*Inula viscosa* (B), arbre pendant la période de florescence(C).....09

Figure 07: différents partie de l'espèce *Pistacia lentiscus* (A) arbuste de *Pistacia lentiscus*, (B), les feuilles de *Pistacia lentiscus* (C) les fruits de *Pistacia lentiscus*.....10

Figure08 : Voie métabolique des espèces réactives de l'oxygène(ERO) impliquées en biologie.....13

Figure09 : les différents mécanismes d'action des antioxydants.....15

Figure10: Mécanisme de l'autoxydation des acides gras par l'oxygène triplet et l'oxygène singulet.....17

Figure11 : Conséquences cellulaires de la peroxydation lipidique.....19

Figure12 : structure de l'acide gallique.....22

Figure13 : structure de la quercétine.....23

Figure14 : la structure chimique de DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Pikryl Hydrazyle).....24

Figure15 : Rendement des extraits méthanoliques des feuilles des plantes médicinales étudiées.....27

Figure 16: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....28

Figure17 : Teneur en phénols totaux des différents extraits méthanoliques.....29

Figure 18: la courbe d'étalonnage de la quercitine.....30

Figure19 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits méthanoliques.....31

Figure20: La réduction du DPPH par un antioxydant.....33

Figure 21 : les valeurs d'IC50enregistré par les extraits de plantes étudiées.....34

Figure22 : Formation de piégeage du radical ABTS par le trolox.....38

Figure23 : Évaluation du pourcentage d'inhibitions du radical ABTS.+ en fonction du temps.....37

Figure24: Pourcentage d'inhibition du radical ABTS.+ par les extraits des plantes étudiées a une concentration de 1mg/mg.....41

Figure 25:représentation graphique Du pourcentage d'inhibition de peroxydation lipidique de l'acide linoléique par les extraits des plantes étudiées.....43

Tableau n° I: Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments..... 14
Tableau n° II: les différentes valeurs d'IC50 et pouvoir anti-radicalaire (ARP) obtenu par les extraits de la présente étude..... 35

SOMMAIRE

Liste des abréviations	i
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux.....	v
Introduction.....	1

CHAPITRE I : IDENTIFICATION BOTANIQUE

I.1 . <i>agave americana</i>	02
1.1. Description botanique.....	02
1.2. Systématique	02
1.3. Activité biologique de l'agave.....	03
I.2 . <i>ajuga iva</i>	03
2.1. description botanique.....	03
2.2.Systématique.....	04
2.3.Les activités biologiques d' <i>ajuga</i>	04
I.3. <i>Aloe vera</i>	04
3.1.Description botanique.....	05
3.2. Systématique.....	05
3.3 activités biologiques d' <i>aloe</i>	05
I.4 . <i>citrus limon</i>	06
4.1. Description botanique.....	06
4.2. Systématique.....	06
4.3. Activités biologique de citrus.....	07
I.5. <i>Fraxinus angustifolia</i>	07
5.1. Description botanique.....	07
5.2. Systématique.....	08
5.3. Activités biologiques de <i>fraxinus</i>	08
I.6 . <i>inula viscosa</i>	08
6.1. Description de la plante d' <i>inula</i>	08
6.2. Systématique de la plante.....	09

6.3. Activités biologiques <i>d'inula</i>	09
I.7. <i>Pistacia lentiscus</i>	09
7.1. Description botanique.....	09
7.2. Systématique de la plante.....	10
7.3. Activités biologiques de <i>pistacia</i>	10

CHAPETRE II : L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II.1. Le stress oxydatif.....	12
1.1. Balance prooxydants/antioxydants	12
1.2. 1.2. Les radicaux libres.....	12
II.2. Les antioxydants	14
2.1. Les antioxydants endogènes.....	14
2.2. Les antioxydants exogènes	14
2.3. Les antioxydants d'orines végétales	15
II.3. Mécanismes d'action des antioxydants	15

CHAPITRE III LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

III.1. Définition.....	16
III.2. Mécanisme de la peroxydation lipidique.....	16
2.1 voies non-enzymatiques.....	16
2.2 La peroxydation enzymatique.....	17
III.3. Conséquences des peroxydations lipidiques.....	18
III.4. La prooxydation par les flavonoïdes.....	19

CHAPITRE IV : MATÉRIELS ET MÉTHODES

IV.1. Matériel végétal.....	20
IV.1.1. Préparation du matériel végétal.....	20
IV.1.2. Préparation des extraits méthanoliques.....	20
IV.1.3. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	21
IV.1.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	21
IV.1.3.1. Dosage de flavonoïdes.....	22
IV.1.2. Évaluation de pouvoir antioxydant.....	23
IV.1.2.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	24
IV.2.2. Effet inhibiteur du radical ABTS+.....	25

IV.3. Évaluation de la peroxydation lipidique.....26
IV.4. Analyses statistiques.....26

CHAPITRE V: RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Préparation des extraits phénoliques.....27
V.1.1. Rendements des extraits bruts.....27
V.2. L'étude phytochimique28
V.2.1. Dosage des phénols totaux.....28
V.2.2. Dosage des flavonoïdes.....30
V.3. Évaluation de pouvoir antioxydant.....32
V.3.1. Effet scavenger du radical DPPH.....32
V.3.2. Effet scavenger du radical ABTS+.....35
V.4. Évaluation de la peroxydation lipidique.....38
Conclusion.....41
Références bibliographiques.....43

Annexes

INTRODUCTION

À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières reviennent au premier lieu car l'efficacité des médicaments décroît vue leurs effets secondaires sur la santé publique (**chahmi et al., 2015**).

La société scientifique, biologiste et chimiste, a mis en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont générés dans les cellules au cours de processus physiologiques d'oxydoréduction ; sont à l'origine directe de différents états pathologiques à savoir le vieillissement les maladies neurodégénératives chronique : cardiovasculaire, rhumatisme et le cancer. (**Macheix et al., 2005**) et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires. Quel que soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides (**koechlin, 2006**).

En effet, l'usage des plantes médicinales dans le traitement de ces pathologie est très répondu, vu leurs effets sur l'organisme qui dépend de la composition de ces plantes en vue leurs effets en fonction de leurs principes actifs, capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Ces substances sont parmi les plus importants groupes de produits naturels en raison de leurs propriétés biologiques et leurs diversités structurales (**Bidie et al., 2011**).

Dans le cadre de ce travail et de la valorisation des plantes médicinales notre choix s'est porté sur sept plantes très répondues dans la région et très utilisées comme plantes médicinales pour expliquer l'action de ces plantes sur l'organisme.

Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle porte sur une extraction des molécules bioactives contenus dans les extraits méthanoliques des plantes suivantes (*Ajuga iva*, *Aloe vera*, *Agave americana*, *Citrus limon*, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus* et *Inula viscosa*) et d'évaluaion de leurs activité antioxydante et leurs effet inhibiteur su la peroxydation lipidique, in vitro, des extraits de ces espèces végétales.

SYNTÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

**IDENTIFICATION
BOTANIQUE**

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes peuvent guérir les malades avec moins d'effets secondaires.

I.1. *Agave americana*

L'*Agave americana* est considéré comme une plante de famille des centaurées, c'est une des espèces les plus abondante (**Chattopadhy and Khan, 2012**), cette plante est distribué dans les régions aride et semi-aride du sud et le nord d'Amérique.

I.1.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Les agaves sont des plantes pérennes, dont la partie souterraine à la forme d'un rhizome, et la partie aérienne présente de longues tiges et de grandes feuilles fibreuses, disposées en forme de rosette et qui finissent en épine. Les fleurs se trouvent à la fin de la tige (figure 1) et sont de couleur jaune-vert, avec ovaire infère (**Gentry, 1982**).

I.1.2. SYSTÉMATIQUE

Règne : Plantae

Genre : *Agave*

Division : Spermatophytes

Espèce : *Agave americana*

Sous division : Angiospermes

Nom commun :

Classe : Monocotylédones

Nom vernaculaire arabe : Sbar ou Mar

Ordre : Liliales

Berbère : Tssebara

Famille : *Amaryllidacées* ou *Agavacées*

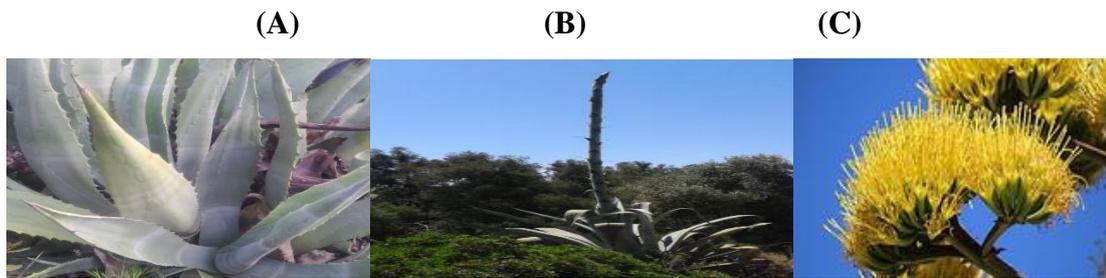


Figure 1 : Quelques photos d'*Agave americana* (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs (originales)

I.1.3. ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DE L'AGAVE

Agave americana est une plante médicinale douée de plusieurs activités biologiques pourvue de sa richesse en molécules actives telles que les composés phénoliques.

Les études réalisées par Rahmani et al en 2015 ont révélé que cette plante a un effet antioxydant très important qui peut réduire le stress oxydatif.

I.2. *Ajuga iva* L

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des lamiacées avec plusieurs espèces. Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie. En Algérie, elle est très abondante dans l'étage bioclimatique aride et semi-aride.

I.2.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Ajuga iva est une petite plante vivace de goût amer de 5-10 cm, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes de 14-25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets (Figure 1). Les fleurs sont violettes, roses, ou jaunes, de 20 mm de longueur. Les graines sont marrons et ont la taille des graines de *Nigella sativa* (Halimi, 2004).

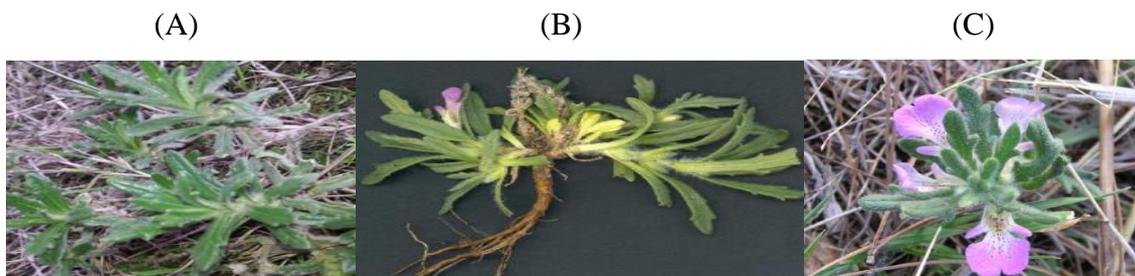


Figure 2 : Quelques photos d'*Ajuga iva*. (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs (originales).

I.2.2. SYSTÉMATIQUE

Règne : Plantae	Famille : Lamiaceae
Sous-règne : Tracheobionta	Genre : <i>Ajuga</i>
Division: Magnoliophyta	Espèce : <i>Ajuga iva</i> L. Schreb
Classe : Magnoliopsida	Nom commun : Ivette, Petit if, Bugle
Sous-classe : Asteridae	Nom vernaculaire (Arabe): Chendgoura (Berbère) : Taftelba
Ordre : Lamiales	

I.2.3. LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES D'AJUGA

Ajuga iva est utilisée dans la médecine traditionnelle comme remède pour plusieurs maladies pour sa richesse en molécules actives dont les flavonoïdes, les terpènes et d'autres composés phénoliques.

Les études faites par Chang et ses collaborateurs en (2014) ont révélé que les flavonoïdes et les terpènes de l'ivette peuvent servir comme remède pour le diabète (Hsieh et al. 2014).

Les études faites par Taleb-Senouci et ses collaborateurs en (2009) ont montré que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* contient un effet antioxydant très élevé qui peut réduire le stress oxydant et diminuer la peroxydation lipidique chez des rats hypercholestérolémiques.

D'autres études aussi ont montré que l'ivette possède d'autres activités : hypertensives (El-Hilaly, 2004), contre les troubles gastro-intestinaux et l'ulcère de l'estomac, antiseptique et cicatrisante sur les plaies.

I.3. Aloe vera

Plante de la famille des liliacées, originaire de l'Afrique et quelques îles de l'océan Indien elles poussent à l'état sauvage dans l'est et le sud de l'Afrique et dans les îles de l'océan Indien. Aujourd'hui, l'*Aloe vera* est cultivée partout dans le monde. On le multiplie en détachant des petites plantes munies de racines que l'on replante.

1.3.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Aloe vera est une plante à aspect de rosette large à feuilles épaisses et charnues dont le diamètre peut atteindre 1 m 50, ses feuilles sont garnies d'épines marginales en forme de fer de lance, différemment colorées du gris au vert. Ces feuilles sont réunies en rosettes denses au sommet d'un tronc robuste de longueur variable.

Les inflorescences en corymbe, naissent au milieu de la rosette, les fleurs petites, tubulaires rouges, jaunes ou blanches (**Boullard, 2001**).



Figure 3 : Quelques photos d'*Aloe vera*. (A) les feuilles, (B) la plante entière, (C) les fleurs

1.3.2. SYSTÉMATIQUE

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Liliidae

Ordre: Liliales

Famille : Aloeaceae

Genre : Aloe

Espèce : *Aloe vera*

Nom commun : Aloès

1.3.3. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES D'ALOE

L'*Aloe vera* est une plante médicinale utilisée depuis l'Antiquité dans des régions du monde éloignées les unes des autres.

Dans la feuille, il y a le suc qui contient de nombreuses anthraquinones, aux propriétés laxatives ; et le mucilage contenant pas moins de 75 ingrédients actifs, aux propriétés multiples (**Michayewicz, 2013**).

En application cutanée, le gel possède plusieurs effets : cicatrisant, hydratant, et antiprurigineux (**LIU et al, 2010**).

D'autres études ont révélé que l'administration orale d'extrait des feuilles peut être un remède pour plusieurs maladies, donc c'est un agent anti-inflammatoire, anti-infectieux,

antiallergique, antidiabétique (DEVARAJ et al, 2013) et même antiviral et anticancéreux (BABAEI et al, 2012).

I.4. *Citrus limon*

Le citron ou *Citrus limon* est un remède naturel majeur.

Un aliment courant doté de nombreuses vertus médicinales, il possède une teneur élevée en vitamine C, favorisant la résistance aux infections, ce qui en fait un allié précieux contre les rhumes et la grippe. On le consomme de façon préventive en cas de gastrites, de problèmes circulatoires et d'artériosclérose (épaississement des parois artérielles).

I.4.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuille persistantes, atteignant 3 à 6 m de hauteur, à cime étalée est peu dense, au feuillage vert clair. Les feuilles composées, unifoliolées, alternées, de forme variable et de taille entre 5 et 10 cm. Les fleurs blanches et odorantes. Fruit ovoïde, de 5 à 10 cm de diamètre, à peau épaisse, jaune clair à mûre odorante. Le citron a plusieurs variétés dont les plus connues sont : Verno, Eurica, Lisbonne, Monachello, Interdonato et Lunaris (Blancke, 2001).

(A)

(B)

(C)



Figure 4 : Quelques photos de *Citrus limon*. (A) les fruits, (B) la plante entière, (C) les fleurs et les feuilles (originales).

I.4.2. SYSTÉMATIQUE

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : Citrus

Espèce : *Citrus limon*

Nom commun : citronnier

Nom vernaculaire (Arabe) : limone

(Berbère) : Ikarasse.

I.4.3. ACTIVITÉS BIOLOGIQUE DE CITRUS

Citrus limon est une plante médicinale très riche en molécules biologiques actives voyant l'écorce du fruit qui est une source majeure de flavonones et ces dérivées (les flavonones polyméthoxylés) qui sont très rares dans les autres plantes.

Les travaux qui sont faites par Maruti et al en **2011** ont montré que les huiles essentielles de l'écorce du fruit de cette plante possèdent une activité antimicrobienne très efficace (**Maruti et al, 2011**).

Citrus limon est une plante médicinale très riche en molécules biologiques actives, l'écorce du fruit qui est une source majeure de flavonones et ces dérivées (les flavonones polyméthoxylés) qui sont très rares dans les autres plantes.

Les travaux qui sont faites par Maruti et al en **2011** ont montré que les huiles essentielles de l'écorce du fruit de cette plante possèdent une activité antimicrobienne très efficace (**Maruti et al, 2011**).

D'autres travaux de Jazet Dongmo et al en **2013** ont révélé aussi que les huiles essentielles de l'écorce du fruit de Citrus possèdent d'autres activités dont l'activité antioxydante, anti radicalaire et anti inflammatoire (**Jazet Dongmo et al, 2013**).

I.5. *Fraxinus angustifolia*

Le Fraxinus angustifolia, de la famille des Oléacées, un arbre des forêts tempérées, à bois clair, souple et résistant, qui peut atteindre une quarantaine de mètres. Anciennement, en Provence, on le nommait « Quinquina d'Europe », en raison de ses vertus médicinales, mais il est aussi connu sous le nom de Frêne à feuilles aiguës, ou encore Langue d'oiseau, à cause de la forme du fruit.

I.5.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Fraxinus angustifolia est un arbre de hauteur moyenne de 15 à 25m avec une couronne ovoïde un peu irrégulière, de 10m de largeur. Ses feuilles sont caduques, opposées et imparipennées, de 12 à 25 cm de long, à 9 ou 13 folioles et de coloration d'automne pourpre violacé ou bordeaux. Ils vivent environ 200ans (**kandamir, 1997**).



Figure 5: Quelques photos de *Fraxinus angustifolia*. L'arbre entier (A), les feuilles de *Fraxinus angustifolia* (B), arbre pendant la période de florescence(C)

I.5.2. SYSTÉMATIQUE

Règne : végétal

Genre : Fraxinus

Embranchement : spermaphytes

Espèce : *Fraxinus angustifolia*

Sous Embranchement: Angiosperme

Nom commun : frêne.

Classe : dicotylidones

Ordre : Oléale

Nom vernaculaire (Arabe) : Dardar

Famille : Oléacéae

(Berbère) :Aslen

I.5.3. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DE *FRAXINUS*

Fraxinus angustifolia est une plante utilisée localement, en médecine traditionnelle contre l'arthrose mais aussi comme diurétique et antirhumatismale. Les feuilles, les fruits du frêne sont astringents, laxatifs et fébrifuges, l'écorce est anti-hémorroïdaire (**Rolland, 2004**).

I.6. *Inula viscosa*

Inula viscosa est une plante arbuste qui appartient à la famille Asteraceae, elle pousse dans les champs (sauvage) dans les alentours du bassin méditerranéen, dans les collines, les zones humides et les bords de la route et apprécie les sols secs et calcaires.

I.6.1. DESCRIPTION DE LA PLANTE D'INULA

C'est une plante d'une hauteur de 0,5 à 01 mètre, Les feuilles sont ondulées, dentées, aiguës, rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre, la floraison est à la fin d'été et le début d'automne, d'une couleur jaune sa croissance est rapide et d'une multiplication semi-division. (**BENSEGUENI, 2001**)

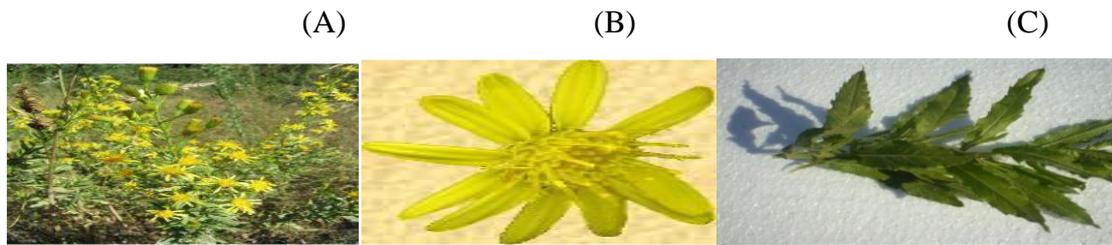


Figure 6 : Quelques photos d'*Inula viscosa*. La plante entière (A), les feuilles d'*Inula viscosa* (B), arbre pendant la période de florescence(C)

I.6.2. SYSTÉMATIQUE DE LA PLANTE

Règne : *Plantae*

Espèce : *Inula viscosa*

Division : *Magnoliophyta*

Nom commun : Inule visqueuse

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre: *Asterales*

Synonyme : *Dittrichia viscosa* ;

Famille: *Asteraceae*

Genre : *Inula*

Nom vernaculaire berbère : magramen.

I.6.3. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES D'INULA

Inula est une plante très anciennement connue, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées. La partie aérienne de cette plante est utilisée sous la forme de décoction dans le traitement du diabète, hypertension et la néphropathie.

La médecine traditionnelle attribue à cette plante plusieurs activités: anti-inflammatoire (**Barbetti, 1985**), activité antiseptique, activité antipyrétique (**Lauro et Rolih, 1990**) et dans le traitement du diabète (**Yaniv, 1987**).

Elle est aussi prescrite comme un agent promoteur dans l'induction de l'avortement et la stérilité des femelles. (**Khalil, et al 2007**).

I.7. *Pistacia lentiscus*

Le pistachier (ou *Pistacia lentiscus*) est un bel arbre à odeur résineuse forte (**Belhadj, 2001 ; Quezel et Santa, 1963**). Elle est particulièrement représentative des milieux les plus chauds du climat méditerranéen.

I.7.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Pistacia lentiscus est une plante arbuste caractérisée par un écorce rougeâtre pour les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce, la plante laisse

écouler une résine irritante non colorée à odeur forte. Des Branches tortueuses et pressées, forment une masse serrée.

Ces feuilles sont persistantes, composées, possédant un nombre pair de folioles (4 à 10) de couleur verte sombre

Les Fleurs sont unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, et très aromatiques. Les fleurs femelles sont vert jaunâtre et les fleurs males sont rouge foncé.

Le Fruit est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme, d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité en automne. et enfin le Mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie. (Annie, A. 2007 ; More and White 2005).

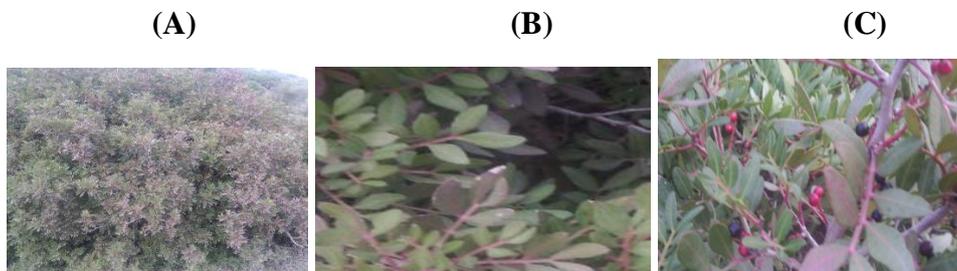


Figure 7: différents partie de l'espèce *Pistacia lentiscus* (A) arbuste de *Pistacia lentiscus*, (B), les feuilles de *Pistacia lentiscus* (C) les fruits de *Pistacia lentiscus*.

I.7.2. SYSTÉMATIQUE DE LA PLANTE

Règne : Plantae

Espèce : *Pistacia lentiscus*.

Embranchement: Spermatophyta

Synonyme : Arbre au mastic

(Angiospermae)

Noms vernaculaires (Anglais): Chios mastic tree

Classe : Dicotyledones

Ordre : Sapindales

Arabe:

Famille : Anacardiaceae (Pistaciaceae)

Berber : amadagh

Genre : Pistacia

I.7.3. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DE PISTACIA

Le mastic du pistachier est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, les diarrhées, les infections bactériennes (Marone *et al*, 2001), les ulcères gastroduodénaux (Al-Said *et al*, 1986; Huwez et Al-Habbal, 1986) et comme un agent antiseptique du système respiratoire et hypotensif (Villar *et al*, 1987).

L'huile essentielle du lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires (**Prichard, 2004**).

Selon les travaux de Gardeli et ses collaborateurs (**2008**), les huiles essentielles révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne.

Les travaux fait par Arab et ses collaborateurs (**2014**) ont montré que les composés phénolique du pistachier possède des activités antimicrobienne et antioxydante remarquables ce qui explique l'usage traditionnel de cette plante.

L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

II.1. STRESS OXYDATIF

Le corps humain produit des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des particules très réactives, de dangereux produits du métabolisme. Ils induisent l'oxydation de molécules biologiques dont les lipides, les protéines et les acides nucléiques, qui conduisent à de nombreuses maladies cardiovasculaires, inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire, favorisent, notamment, le processus de vieillissement tels que le cancer. Il est donc capital de trouver de nouvelles molécules efficaces pour neutraliser ces espèces (Atmani, 2009).

II.1.1 BALANCE PROOXYDANTS/ANTIOXYDANTS

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité, dont leurs production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre (Favier, 2003).

Si ce n'est pas le cas, un déséquilibre en faveur des espèces prooxydantes par rapport au système de défense de l'organisme (antioxydants) contre ces substances soit produit, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ».

Ce déséquilibre a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Delattre et al, 2005).

II.1.2. LES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes possédant un ou plusieurs électrons célibataires, ce qui les rend très réactifs. Ils font partie du métabolisme oxydatif et sont considérés comme agents potentiellement toxiques lorsqu'ils sont produits à des concentrations élevées, l'augmentation du taux des dommages cellulaires induits par l'oxygène et les dérivés oxydants d'oxygène connus comme espèces réactives d'oxygène (ERO). La formation initiale des ERO se base sur la réduction d'oxygène moléculaire selon des processus métaboliques endogènes. Parmi les processus endogènes qui conduisent à la

formation des ERO, on peut citer la respiration cellulaire, l'activité de certaines cellules immunitaires, la biotransformation des cytochromes de type CYP450 et quelques autres réactions catalytiques et biosynthétiques.

Les radicaux sont capturés dans les mitochondries par la Superoxyde dismutase, mais le reste arrive intact dans le cytosol des cellules. Une fois dans le cytosol, les radicaux libres interagissent avec d'autres liaisons et, en leur arrachant des électrons, parviennent à former de nouveaux radicaux. Il s'en suit donc une réaction en chaîne au cours de laquelle les électrons changent de «propriétaire». La peroxydation des lipides par des radicaux hydroxyles peut aussi provoquer, par une autre forme de réaction en chaîne, la formation de nouveaux radicaux hydroxyles. Ils s'attaquent essentiellement à l'ADN et plus précisément à ses bases azotées (A, T, C, G), aux protéines, essentiellement les systèmes enzymatiques, aux lipides et aux membranes biologiques qu'ils composent. HO[•] réagit par exemple avec la guanine(G) pour former 8-OH-guanine, qui ne se lie plus à la cytosine (1Luz, 2010)

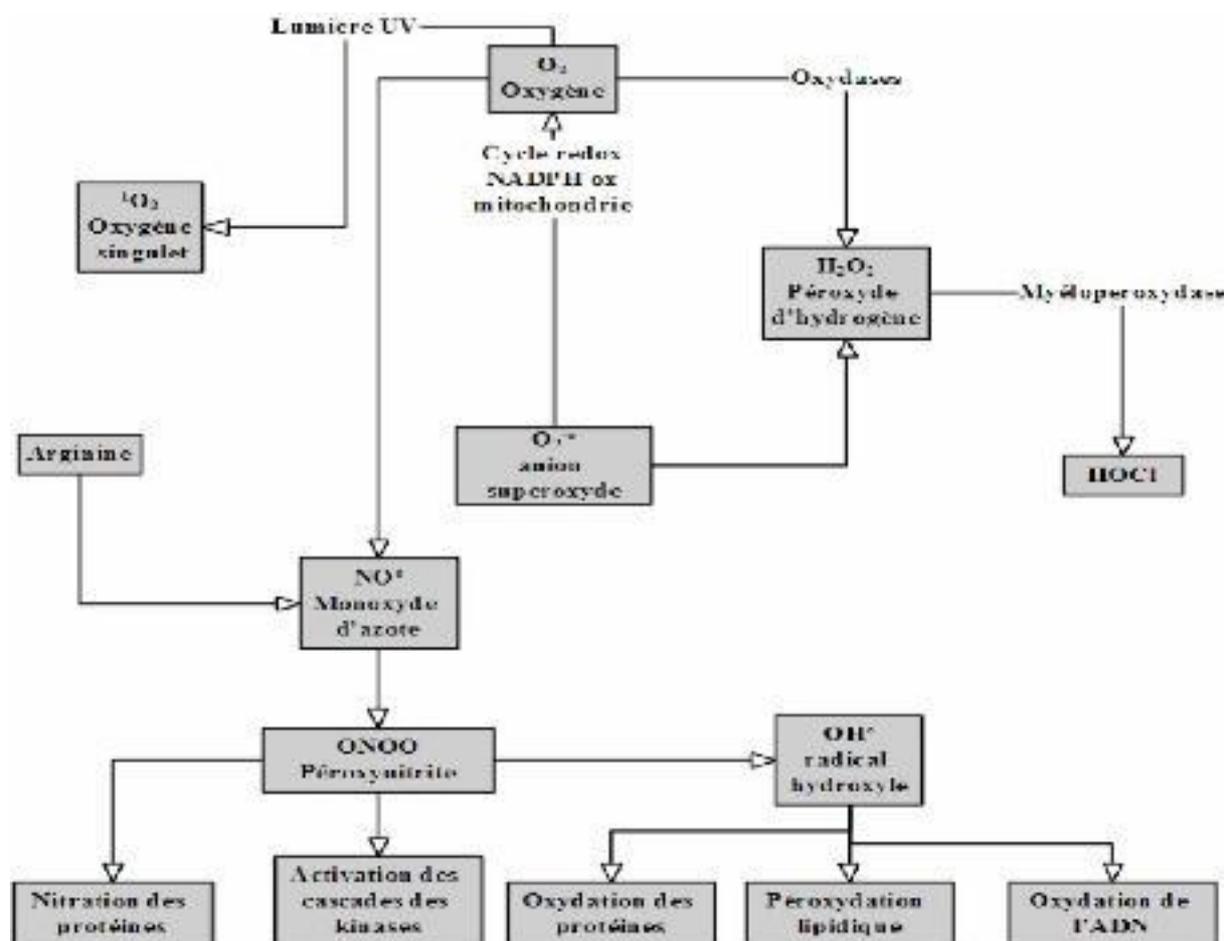


Figure 8: Voie métabolique des espèces réactives de l'oxygène (ERO) impliquées en biologie (Amzal, 2010)

II.2. LES ANTIOXYDANTS

Les antioxydants sont des substances qui sont présentes à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, capables d'inhiber ou de prévenir son oxydation en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif. Cependant les propriétés des antioxydants découlent de la présence de noyaux aromatiques, de liaisons conjuguées qui les rend aptes à piéger ces radicaux libres (Magalha et al, 2008).

II.2.1. LES ANTIOXYDANTS ENDOGÈNES

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces permettent l'élimination des radicaux libres qui peut être enzymatiques (Superoxyde dismutase, Catalase, Glutathion peroxydase, Glutathion réductase) (Arora, 2002) et non enzymatiques (Protéines Hydrosolubles et Liposolubles).

II.2.2. LES ANTIOXYDANTS EXOGÈNES

Ce sont des molécules exogènes présentes dans l'alimentation telle que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse (pourrut, 2008) (tableau 1).

Tableau I : Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments.

Antioxydant	Protège contre	Sources
Vitamine C (Benbrook, 2005).	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancer	Agrumes, tomate, melon, fraise, kiwi, poivron, brocoli
Vitamine E (Pourrut, 2008).	Les maladies cardiaques et cancer de la prostate, ralentit la maladie d'Alzheimer	Noix et graines, huiles, fruits et légumes
Caroténoïdes (Pourrut, 2008).	Les cancers, en particulier le cancer du poumon, et les maladies cardiovasculaires	Carotte, patate douce, courge, brocoli, chou frisé, épinard ; fruits : abricot, pêche
Flavonoïdes (Lahouel et al., 2006)	Cancer	Bleuet, cerise, canneberge, mûre, cassis, prune, raisin

II.2.3. LES ANTIOXYDANTS D'ORIGINES VÉGÉTALES

Les antioxydants d'origines naturelles sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en général des composés phénoliques. Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques présente dans le règne végétal et animal, Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie de molécules simples (phénols simples) en molécules hautement polymérisées (tanins condensés) ; Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques. Leur activité antioxydante résulte de leur capacité à piéger les radicaux libres en complexant les ions du fer et du cuivre ainsi que par l'inhibition des oxydases et jouent également un rôle important dans la prévention des maladies cardiovasculaires. De ce fait, Ils sont utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

LES FLAVONOÏDES COMME ANTIOXYDANTS

Ce sont des substances naturelles présentes dans tout le règne végétal. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer le cuivre ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (Lahouel et al, 2006).

II.3. MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIOXYDANTS

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

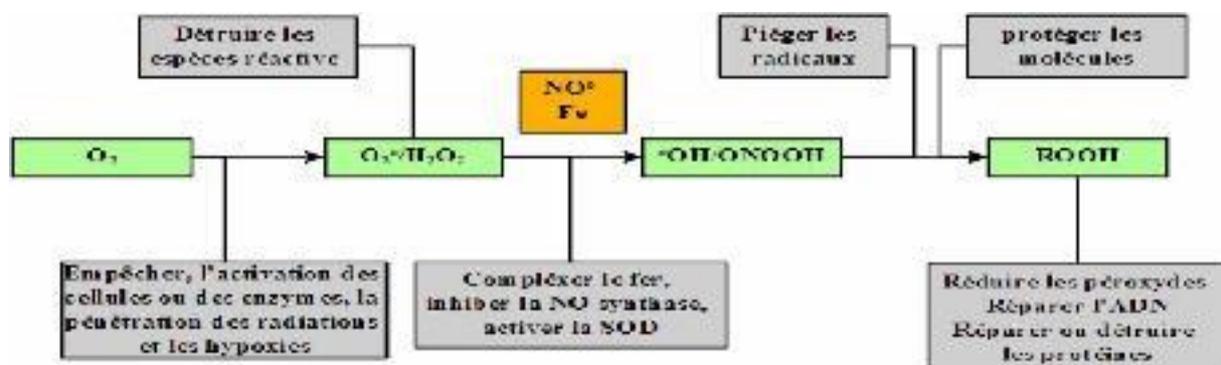


Figure 9 : les différents mécanismes d'action des antioxydants (Amzal, 2010).

LA PEROXYATION LIPIDIQUE

La peroxydation lipidique est un phénomène général qui se produit dès la présence de l'oxygène. Tous les lipides contenant des acides gras insaturés quelle que soit leurs origines (végétales ou animales) sont concernées (**Cillard and Cillard, 2006**). L'étude des mécanismes de la peroxydation lipidique et des moyens de la prévenir par les antioxydants connaît depuis les dernières décennies un regain d'intérêt dû aux implications de ces phénomènes dans les domaines de la nutrition et de la santé.

III.1. DÉFINITION

La peroxydation lipidique est un mécanisme de dégradation en chaîne des acides gras en conduisant à la formation d'hydroperoxydes instables, responsables notamment de la diminution de la fluidité membranaire (**Dianzani & Barrera, 2008**).

L'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) est en partie la cause des lésions dues à l'accumulation de dépôts lipidiques (essentiellement cholestérol) dans les vaisseaux sanguins.

III.2.MÉCANISME DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

La peroxydation lipidique peut procéder tant par des voies enzymatiques que par des voies non-enzymatiques (**Repetto et al, 2010**).

III.2.1 VOIES NON-ENZYMATIQUES

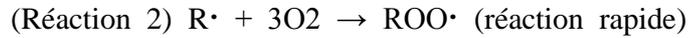
La peroxydation non-enzymatique se fait par plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

L'auto-oxydation provient de la température, de la présence d'ions métalliques (oxydation), ou de radicaux libres déjà présents, qui s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes : l'amorçage, la propagation et la terminaison (**El-Beltagi and Mohamed, 2013**) (figure 10).

➤ **L'amorçage** : c'est la première réaction qui produit un radical libre par élimination d'un hydrogène d'une double liaison d'un acide ou d'un résidu d'acide gras insaturé (Réaction 1). Cette déshydrogénation a soulevé le problème de l'important niveau d'énergie nécessaire pour arracher un atome d'hydrogène, donc ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de la température, peut aussi être produit par des réactions ionisantes, des générateurs chimiques (exemple de persulfate d'ammonium)



➤ **Propagation** : les radicaux libres alkyles ($R\cdot$), formés lors de l'initiation, fixent très rapidement l'oxygène moléculaire à l'état normal et forment des radicaux libres peroxylés ($ROO\cdot$) instables (Réaction 2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturé pour former des peroxydes (Réaction 3).



Les peroxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyle ($RO\cdot$) et hydroxyle ($HO\cdot$).

Le radical alcoyle réagit avec d'autres substrats, il y a propagation de la réaction en chaîne et formation d'autres radicaux ce qui induit à l'évolution de la peroxydation de plus en plus.

➤ **Terminaison**

Au cours des réactions de terminaison, les radicaux formés réagissent entre eux pour former un produit qui n'est pas un radical libre (Réaction 4, Réaction 5 et Réaction 6).

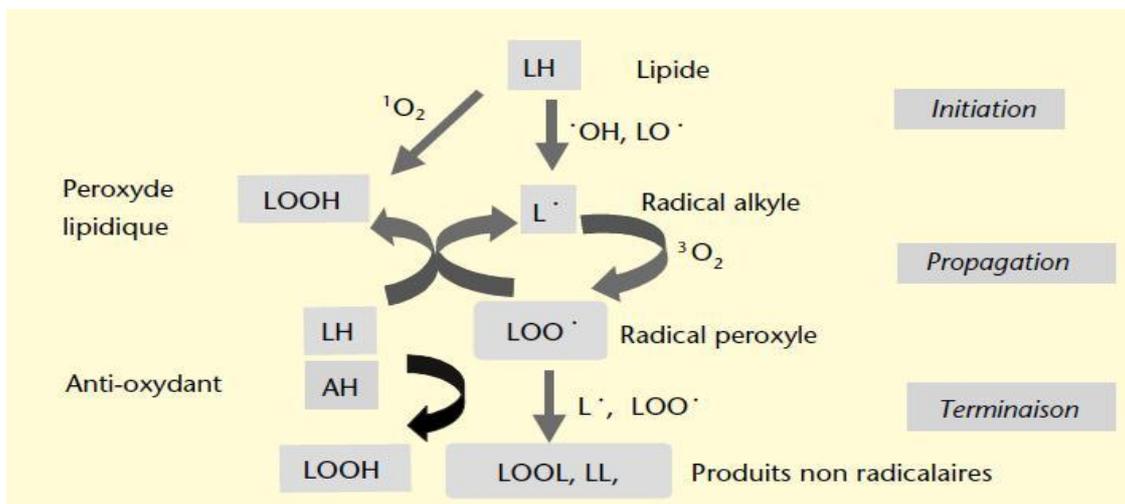


Figure 10 : Mécanisme de l'autoxydation des acides gras par l'oxygène triplet et l'oxygène singulet (Cillard and Cillard, 2006).

III.2.2 LA PEROXYDATION ENZYMATIQUE

Le phénomène de la peroxydation des résidus d'acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et

la cyclooxygénase. Ces sont des enzymes présentes dans les tissus végétaux, dans les érythrocytes et les leucocytes.

Les lipoxygénases contiennent un atome de fer dans leur site actif. Elles sont activées par les peroxydes, le fer constitutif du site actif de l'enzyme passant de l'état Fe²⁺ à l'état Fe³⁺.

L'acide gras se fixe alors sur l'enzyme au niveau de sa structure pentadiényle et réagit avec l'oxygène moléculaire (³O₂). Le radical peroxyde formé est immédiatement réduit par l'enzyme pour donner un hydroperoxyde après réaction avec un proton. La réaction est régiosélective, avec une spécificité dépendant de l'origine de l'enzyme (**El-Beltagi and Mohamed, 2013**).

Par rapport à l'auto-oxydation, la réaction catalysée par une enzyme est également caractérisée par l'existence d'un pH optimum, de sa sensibilité aux traitements thermiques (même à basses températures), d'une vitesse de réaction élevée entre 0 et 20 °C, et de l'existence d'inhibiteurs spécifiques (par exemple l'aspirine comme inhibiteur des cyclooxygénases).

III.3. CONSÉQUENCES DES PEROXYDATIONS LIPIDIQUES

Elles ont très nombreuses. Les hydroperoxydes instables en se décomposant vont donner de nouveaux radicaux libres provoquant des oxydations des biomolécules, mais aussi des aldéhydes réactifs qui feront des adduits sur les groupements amines (NH₂) des biomolécules (acides nucléiques, protéines, lipides).

L'oxydation des protéines au niveau de leurs fonctions thiols altère leurs structures (*misfolding* des protéines des LDL) et leurs fonctions (perte d'activité des enzymes et des récepteurs) (**Cillard and Cillard, 2006**).

Toutes les structures de la cellule seront ainsi touchées et particulièrement les membranes (membranes plasmique, mitochondriale lysosomale) (**NAKAGAWA, 2004**). La **figure** illustre les altérations cellulaires résultant de la lipoperoxydation des membranes. Les composés riches en acide gras polyinsaturés AGPI (corps gras alimentaires, cosmétiques) subiront des modifications organoleptiques (rancidité, acidité, modification de la couleur avec apparition de brunissements). Des conséquences nutritionnelles vont résulter de l'oxydation de nutriments (disparition des vitamines A, E, C, oxydation d'acides aminés) (**Cillard and Cillard, 2006**). Enfin des composés toxiques (peroxydes, époxydes, aldéhydes réactives de l'oxygène ou interceptent les espèces responsables de l'initiation de la lipoperoxydation et les

antioxydants « *chain breaking* » qui interceptent les radicaux propagateurs de la peroxydation lipidique et retardent la peroxydation (période d'induction).

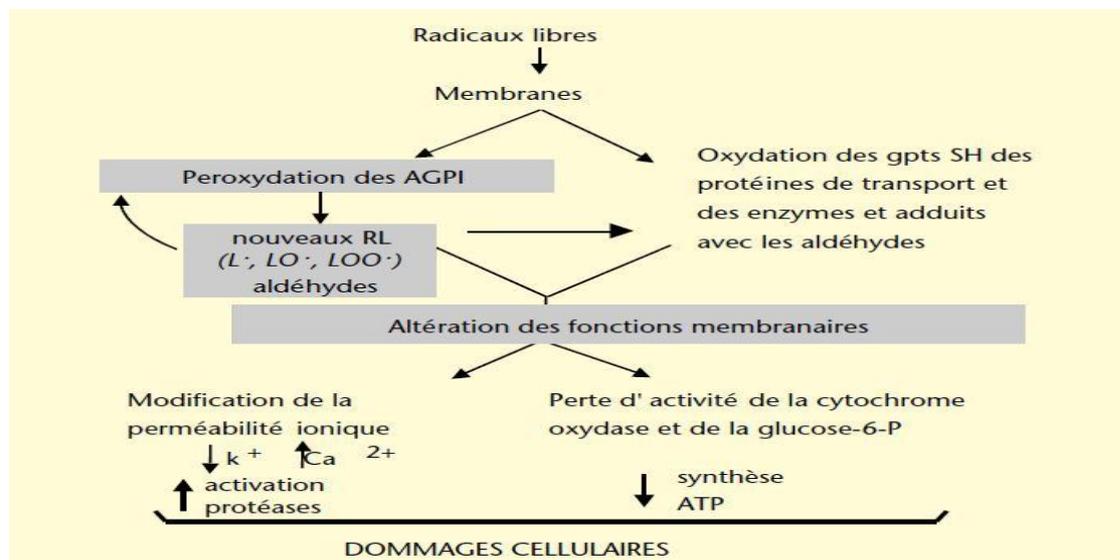


Figure 11: Conséquences cellulaires de la peroxydation lipidique (Cillard and Cillard, 2006).

III.4. LA PROOXYDATION PAR LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes peuvent intervenir à différents niveaux de ce processus de peroxydation (Leak, 1998).

Ils sont capables de capturer directement les composés radicalaires, et ainsi d'interrompre la propagation de la réaction en chaîne radicalaire. Les flavonoïdes, présents à la surface des membranes, sont capables de régénérer la vitamine E, l'un des antioxydants essentiels dans la protection des membranes cellulaires. Relativement peu d'études ont porté sur cette implication biologique des flavonoïdes (Winkel-Shirley, 2002).

Les flavonoïdes sont également capables d'inhiber les enzymes responsables de la production des ERO, ici la lipoxygénase et la cyclooxygénase et donc d'empêcher la production de l'hydroperoxyde LOOH. Enfin, étant de bons chélatants, elles sont capables de coordonner le fer libre et donc d'empêcher la réaction (4) de la terminaison (Engelmann et al, 2005).

PARTIE PRATIQUE

MATERIELS ET METHODES

IV.1. MATÉRIELS VÉGÉTAUX

IV.1.1. PRÉPARATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les espèces *Agave americana*, *Ajuga reptans*, *Citrus limon*, *Fraxinus angustifolia*, *Inula viscosa*, *Pistichia lentiscus*, ont été récoltées en mois de février 2015 dans les régions de Beni Djelil et Tazmalt de la wilaya de Bejaia et elles sont identifiées au niveau de laboratoire de Biologie végétale au niveau de l'université de A.Mira Béjaia.

Après nettoyage par l'eau, les parties aériennes des plantes (tiges vertes et feuilles) ont été séchées à l'air libre et à l'abri du soleil pendant 02 semaines, après elles sont transférées dans une étuve à 40° C pour compléter le séchage pendant 24h.

Les plantes sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, tamisé à l'aide d'un tamiseur électrique de diamètre moins de 250 µm et conservé dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et de l'humidité pour des utilisations ultérieures.

IV.1.2. PRÉPARATION DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUES

La préparation des extraits méthanoliques a été faite selon la méthode de **Bengandoura et Bendimerad (2013)**, c'est une extraction par macération (solide-liquide).

20g de la poudre végétal de chaque plante est introduite dans 200 ml de méthanol pur (MeOH, 99%) sous agitation magnétique pendant 3 jours avec changement du solvant chaque 24h avec récupération du filtrat à chaque fois.

La solution obtenue est filtrée à l'aide du papier Wattmen N° 3 plusieurs fois. Ensuite, le filtrat a subi à un lavage par l'éther de pétrole sous décantation pour éliminer les cires et lipides et pour avoir un extrait phénolique pur. Ce dernier est mis dans une étuve à 40° C pendant 48 h dans le but d'éliminer le solvant.

➤ Calcul du rendement

Le rendement de la plante en extrait est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (**Caree, 1953**).

Le rendement est calculé par la formule suivante : $R = PE / PA \times 100$.

Où :

R : rendement de l'extrait par pourcentage (%) ;

PE : poids de l'extrait en gramme (g) ;

PA : poids de la plante en gramme (g).

IV.1.3. ANALYSE QUANTITATIVE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin-Siocalteu, tandis que les flavonoïdes ont été quantifiés par le dosage direct par le trichlorure d'aluminium.

IV.1.3.1. DOSAGE DES POLYPHÉNOLS TOTAUX

➤ Principe

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par singleton et Ross (**1965**) avec le réactif de folin-Ciocalteu. En milieu basique, le réactif de folin-Ciocalteu qui est formé d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et l'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction (oxydes métalliques W_8O_{23}/Mo_8O_{23}) de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Boizot et charpentier, 2006**). La concentration massique des constituants utilisés dans la préparation des réactifs, a été optimisée pour obtenir la réponse analytique la plus linéaire possible en respectant le rapport réactifs/composés phénoliques totaux.

Pour la quantification des polyphénols dans nos échantillons on a utilisé la méthode de folin ciocalteu adopté par singleton et Ross en (**1965**) laquelle on a utilisé l'acide gallique (Figure 12) comme standard pour réaliser la courbe d'étalonnage de référence.

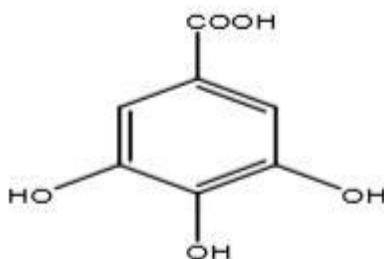


Figure 12: structure de l'acide gallique.

➤ **Mode opératoire :**

100µl de chaque solution ont été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivi de l'addition de 500µl du réactif de folin-Ciocalteu (diluée 10 fois). Après incubation pendant 5 minutes, 1.5 ml de carbonates de sodium Na_2CO_3 à 20% ont été ajoutées, puis maintenues dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas d'acide gallique (l'extrait phénolique).

Les absorbances des différentes concentrations obtenues par la lecture ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant l'acide gallique par des dilutions des extraits jusqu'à une appropriée concentration. La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été calculée et exprimé en équivalent acide gallique en milligramme par 1g de l'extrait sec (mg/g).

IV.1.3.1. DOSAGE DE FLAVONOÏDES

➤ **Principe**

Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 415 nm. Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV, dont la Quercetine est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 415$ nm.

Pour la quantification des flavonoïdes dans nos échantillons on a utilisé la méthode de (**kim et al., 2003**) Dans laquelle on a utilisé la quercitrine (Figure 13) comme standard pour réaliser la courbe d'étalonnage de référence.

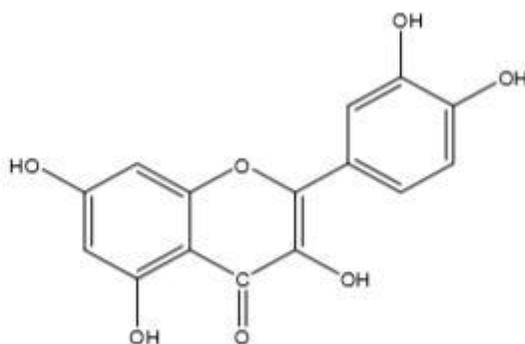


Figure 13: structure de la quercétine.

➤ **Mode opératoire :**

0.5 ml de la solution diluée a été mélangé avec 1.5 ml de méthanol pur, est mis à réagir avec 0.1 ml de chlorure aluminium 10%, suivie de 0.1 ml d'acétate de sodium 1M et 2.8 ml d'eau distillé puis laissé 30 minutes. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 415 nm.

L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux des extraits a été réalisée en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant la quercétine par des délutions des extraits jusqu'à une appropriée concentration. La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été calculée et exprimé en équivalent Quercétine en milligramme par 1g de la matière végétale (mg/g).

IV.1.2. ÉVALUATION DE POUVOIR ANTIOXYDANT

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé deux différents tests chimiques à savoir : le test ABTS et l'effet (scavanger) sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

IV.1.2.1. EFFET SCAVENGER DU RADICAL DPPH

➤ **Principe:**

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-William et al. 1995**).

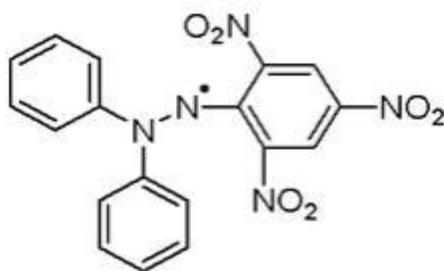


Figure 14: la structure chimique de DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Pikryl-Hydrazyle).

Dans la présente étude, pour la détermination de l'effet scavenger du radical DPPH on a utilisé la méthode adopté par Hsu et *al* (**2008**) modifié par wu et *al* en (**2015**).

➤ **Mode opératoire:**

1ml de chaque extrait phénolique dilué (et le standard) acide ascorbique est additionné à 1ml d'une solution de DPPH• (200µM) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm.

- **Calcul des pourcentages d'inhibitions** : Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I(\%) = \left[1 - \left(\frac{A_1}{A_0} \right) \right] \times 100$$

I (%) : pouvoir d'inhibition en %.

A0: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait

A1: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

- **Calcul des IC50**: IC50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH, Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards (**wu et al, 2015**).

IV.2.2. EFFET INHIBITEUR DU RADICAL ABTS⁺

- **Principe:**

Cette méthode est basée sur la capacité des composés phénoliques à piéger le radical-cation ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

Le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS.

En présence du Trolox (ou d'antioxydant donneur de H[•]), le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant au cation l'ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution bleue (**Djeridane et al.2007**).

Dans notre étude, La mesure de l'activité scavenger du radical ABTS a été effectuée en suivant le protocole adoptés par **Re et ses collaborateurs (1999)** et modifier par **Le et al en (2007)**.

- **Mode opératoire:**

Une solution ABTS à 7 mM est additionnée à une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) à 2,45 mM le mélange sera incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 12 à 16h dans le but de formation du radical-cation ABTS^{•+}. La solution de l'ABTS⁺ est diluée ensuite avec de l'eau distillée afin d'obtenir une absorbance de 0,7±0,02 à 734nm. 100 µl d'extraits à

différentes concentrations est ajoutées à 1,9 ml de solution d'ABTS^{•+} après dilution qui sera ensuite incubé pendant 6 min. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 734 nm.

IV.3. ÉVALUATION DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

➤ **Principe:**

L'évaluation du pouvoir anti peroxydation lipidique est réalisé par la méthode de thiocyanate ferrique (FTC) d'où le Principe est d'évaluer le taux des peroxydes présents dans le milieu réactionnel par le FeCl₂ et le thiocyanate d'ammonium. Cependant, durant l'oxydation de l'acide linoléique, il y a formation du peroxyde qui à son tour assure l'oxydation du Fe⁺² en Fe⁺³. Ce dernier se lie avec le thiocyanate d'ammonium pour former un complexe ayant un maximum d'absorbance à 500nm.

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique est calculé comme suit :

$$(\%) \text{ d'inhibition} = [1 - (\text{absorbance d'échantillon} / \text{absorbance du control}) / 100]$$

Dans notre étude, La mesure de l'inhibition de la peroxydation lipidique a été effectuée en suivant le protocole adopté par Osawa et namiki en **1981**.

➤ **Mode opératoire:**

1ml de chaque extrait préparé dans le méthanol à 95% additionnée à 1,025ml d'une solution de l'acide linoléique à 2,51% (dans le méthanol à 99,5%), mélangé avec 2ml de tampon phosphate à 50Mm(Ph=7) et additionnée à 0,975ml d'H₂O, incubation à 40C° pendant une semaine avec agitation. prélèvement chaque 24h de 25µl de solution A, et ajoute 2,425ml de méthanol à 75% et 25µl de TCA (30%) dans l'H₂O, 25µl de FeCl₂ à 20 Mm dans HCL à 3.5% et incubation à l'abri de la lumière pendant 3min et à température ambiante. Puis une lecture des absorbances à 500 nm sera effectuée.

IV.4. ANALYSES STATISTIQUES

Les données expérimentales du dosage et l'évaluation de l'activité antioxydante obtenues ont été exprimés par une moyenne et plus ou moins l'écart type. Le coefficient de corrélation des propriétés antioxydante a été déterminé en utilisant les programmes Origine 6 et l'Excel 2013. La détermination de la valeur de l'IC₅₀ a été faite par le programme ICEstimator version 1.2 [en ligne].

RESULTATS ET DISCUSSIONS

V.1. PRÉPARATION DES EXTRAITS PHÉNOLIQUES

La cellule végétale possède l'eau qui est une source de dégradation des polyphénols par l'oxydation (**Ribereau-G, 1968 ; cork et Krocknenberger., 1991**).

Donc avant de procéder à l'extraction, les parties des plantes doivent être séchées jusqu'à l'obtention d'un poids sec.

Le séchage entraîne l'inhibition des enzymes qui peuvent exister dans le matériel végétal frais en particulier les polyphénols oxydases et les glucosidases qui provoquent des modifications des composés phénoliques des plantes (**Owen et Johns, 1999**).le séchage doit être à l'abri du soleil et à température ambiante afin d'assurer un bon séchage et de conserver le maximum de composés phénoliques (**Fouché et al., 2000**).

V.1.1. RENDEMENTS DES EXTRAITS BRUTS

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol des plantes étudiées, nous a permis de déterminer les rendements de leurs extraits bruts, les résultats sont présentés dans l'Annexe 1 et sont exprimés sous forme d'un histogramme dans la figure 15.

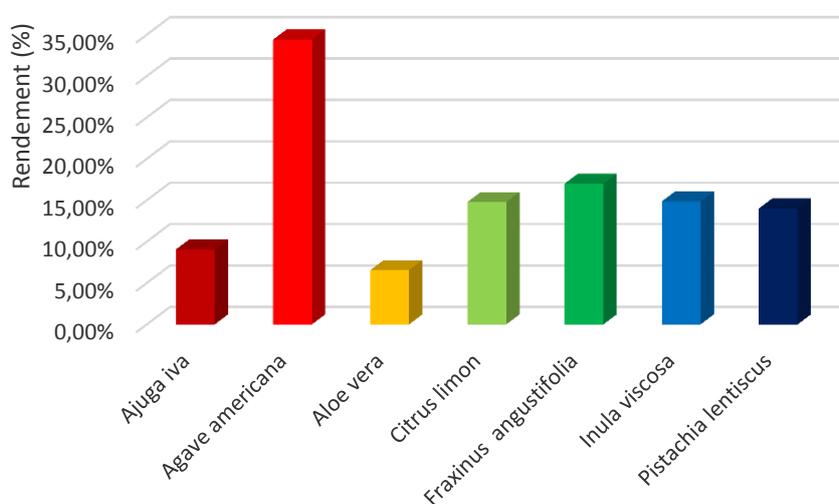


Figure 15: Rendement des extraits méthanoliques des plantes médicinales étudiées.

D'après les résultats obtenus, Le meilleur taux d'extraction est observé chez l'extrait méthanoliques de l'*Agave americana* avec un taux de (34.4%), ce qui démontre que cette plante est riche en composés bioactifs par rapport aux autres plantes étudiées.

Le plus faible taux est exprimé par l'extrait de l'*Aloe vera* (6.55%) toutefois, il est plus élevé que celui de enregistré par l'extrait éthanolique dans l'étude de **Moniruzzaman., et al (2012)** qui est de l'ordre de (4.0 %).

L'extraction des composés phénoliques dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité. Le temps d'extraction influence sur la teneur en polyphénols (**Spigno et De faveri, 2007**) et l'augmentation de la température augmente le taux d'extraction mais à une limite de 60°C (**Chan et al., 2009**), une extraction au delà de cette température et à un temps d'extraction trop long peut mener à la perte des composés phénoliques et leur dégradation à cause de la sensibilité de ces molécules à la chaleur (**Menyar et al., 2012**).

La méthode d'extraction, la granulométrie de l'échantillon, le pH du milieu et la concentration du solvant peuvent aussi influencer le taux de l'extraction (**Nour et al., 2013**).

V.2. L'ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE

V.2.1. DOSAGE DES PHÉNOLS TOTAUX

La teneur en phénols totaux des extraits méthanoliques des plantes qui font l'objet d'analyse a été déterminé par la méthode Folin ciocalteu adopté par **Singleton et Rossi (1965)**.

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait méthanolique a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 16) et exprimé en milligramme par gramme d'extrait équivalent en acide gallique (mg EAG/ g Es). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure17.

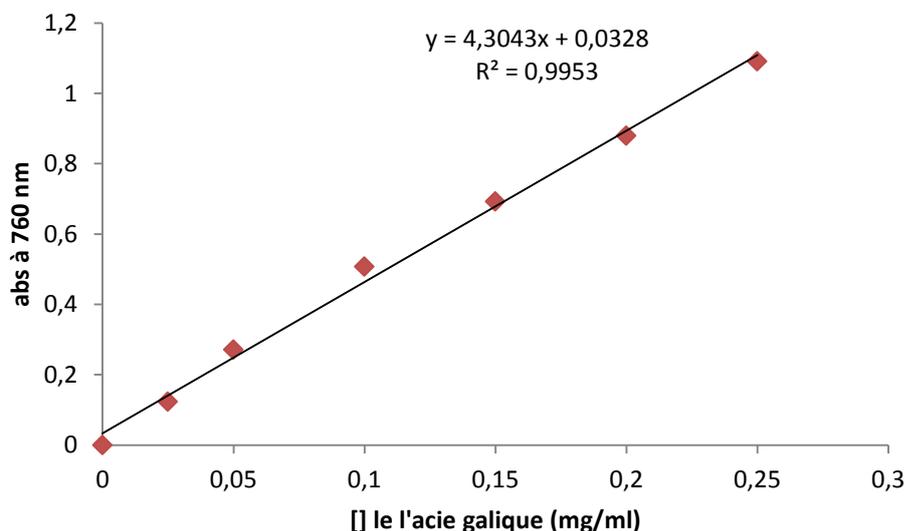


Figure 16: la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

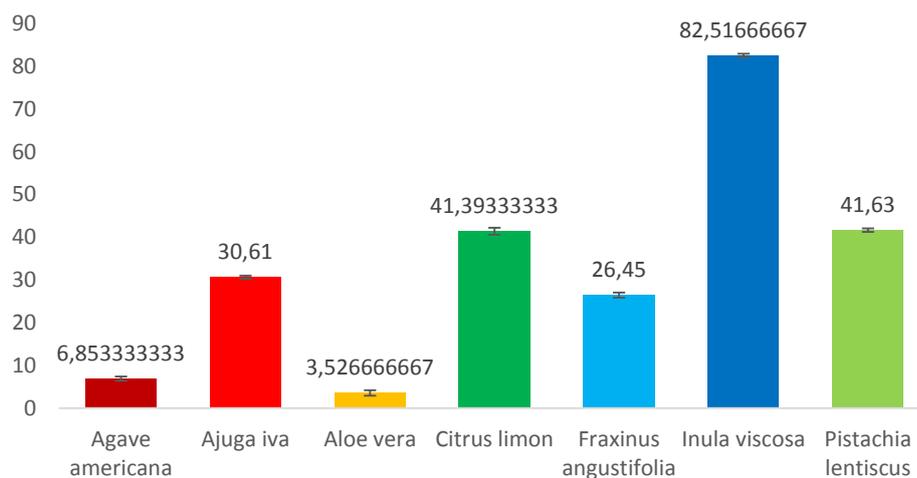


Figure 17: Teneur en polyphénols totaux des différents extraits méthanoliques.

D'après ces résultats, la teneur en polyphénols totaux (annexe n°3) contenue dans l'extrait méthanolique d'*Inula viscosa* est assez importante (82.51 ± 0.404 mg EAG/g Es) suivie par l'extrait de *Pistacia lentiscus* (41.63 ± 0.398 mg EAG/g Es) et celui de *Citrus limon* (41.39 ± 0.834 mg EAG/g Es) qui contient une quantité de polyphénols élevée par rapport aux autres extraits de plantes étudiées. Des teneurs aussi appréciables sont révélées dans les échantillons suivants : *Ajuga iva* et *Fraxinus angustifolia* (30.61 ± 0.356 et 26.45 ± 0.584 mg EAG/g Es, respectivement). Par contre, le contenu phénolique le plus faible, a été enregistré pour les extraits de *Agave americana* (6.85 ± 0.484 mg EAG/g Es) et l'*Aloe vera* (3.52 ± 0.614 mg EAG/g Es).

La teneur en polyphénols enregistrée par *Ajuga iva* est en accord avec celle de l'extrait chloroformique (30.46 ± 3.72 mg EAG/g Es) obtenu dans l'étude faite par **Baghiani et ses collaborateurs** en (2011) et une teneur très importante par rapport à celle de notre extrait enregistré par l'extrait méthanolique (20.125 ± 2.257 mg EAG/g Es) démontré par la même étude et celle faite par **Boudjelal** en (2013) qui est de (06.30 ± 0.29 mg EAG/g Es).

Les travaux faits par **Nejatzadeh-Ben** 2013 ont révélé une teneur en polyphénols d'extrait d'*Aloe vera* de 0.782 ± 4.03 mg EAG/g Es qui est moins importante à celle de notre extrait qui est de 3.52 ± 0.614 mg EAG/g Es.

La teneur en polyphénols montrée par l'extrait sec de l'*Agave americana* (6.54 ± 0.02 mg EAG/g Es) démontré par **Rahmani** et ses collaborateurs en 2015 est similaire à celle montrée par notre extrait (6.85 ± 0.484 mg EAG/g Es).

En effet, la teneur en polyphénols totaux peut être influencée par plusieurs facteurs. Selon **Alonso-Amelot et al(2007)**, la lumière augmente la biosynthèse des composés phénoliques qui s'accumulent dans les cellules des plantes. Le type de l'atmosphère et la température d'extraction peuvent influencer sur le taux de polyphénols, les études faites par **Menyar** et ces collaborateurs en **2012** ont démontré que l'absence de l'oxygène dans le milieu réactionnel réduit la teneur en polyphénols à une température de 25°C de 14.3% et à une température de 150° C diminue le taux de 12.4%. Selon la même étude, dans une atmosphère azotée résulte une diminution de 38.5% à 25° C et plus de 315% à 150° C.

Comme elle peut être influencé par certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al.2008 ; Nour et al., 2013**).

V.2.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait méthanolique a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercitine (Figure 18) et exprimé en milligramme par gramme d'extrait équivalent en quercitine (mg EAG/ ml Es). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 19.

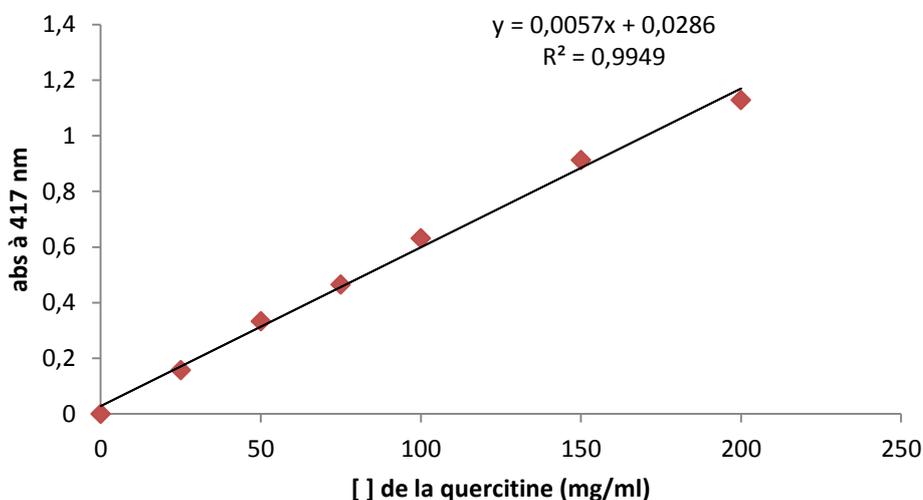


Figure 18: la courbe d'étalonnage de la quercitine.

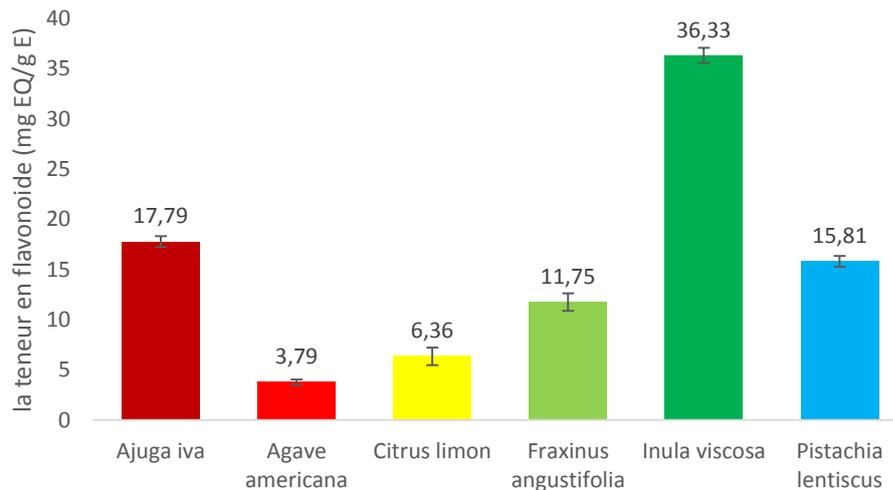


Figure 19: Teneur en flavonoïdes des différents extraits méthanoliques.

D'après le tableau, la teneur en flavonoïdes montrée par l'extrait méthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* est assez importante (36.33 ± 0.759 mg EQ/g Es) qui est une quantité de très élevée par rapport aux autres extraits de plantes étudiées. Des teneurs aussi appréciables ont été révélées dans les échantillons suivants : *Ajuga iva*, *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia* (17.79 ± 0.541 , 15.81 ± 0.539 et 11.75 ± 0.875 mg EQ/g Es). Par contre le contenu de flavonoïde le plus faible, a été enregistré pour les extraits de *Citrus limon* (6.36 ± 0.880 mg EQ/g Es) et *Agave americana* (3.79 ± 0.268 mg EQ/g Es).

D'après des études faites par Atmani et ses collaborateurs en (2009), l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* et *Fraxinus angustifolia* montrent des teneurs en flavonoïdes (12.93 ± 1.69 et 6.6 ± 0.08 mg EQ/g Es respectivement) moins importantes par rapport à celle enregistrée par nos extraits qui sont de 15.81 ± 0.539 et 11.75 ± 0.875 mg EQ/g Es respectivement.

D'après des études réalisées par Baghiani et ses collaborateurs en (2011), la teneur en flavonoïdes exprimée par l'extrait d'*Ajuga iva* (17.79 ± 0.541 mg EQ/g Es) est en accord avec celle démontrée par l'extrait chloroformique (18.42 ± 1.936 mg EQ/g Es) et très importante par rapport à celle enregistrée par l'extrait méthanolique (10.248 ± 1.079 mg EQ/g Es) de cette étude et aussi par rapport à celle de l'extrait méthanolique montrée par une étude faite par Adjadj en (2009) qui est de (4.92 ± 0.30 mg EQ/g Es).

La teneur en flavonoïdes démontrée par les sept plantes est très variable allant de 3.79 ± 0.26 jusqu'à 36.33 ± 0.75 mg EQ/g Es qui peuvent être la conséquence de plusieurs facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage).

V.3. ÉVALUATION DE POUVOIR ANTIOXYDANT

Dans cette partie, on a étudié l'activité antioxydante des différents extraits de plantes (Aa, Ai, Av, Cl, Fa, Iv et Pl) par deux techniques, *in vitro*, afin de localiser les extraits qui présentent le plus d'activité. Il s'agit de DPPH[·] et ABTS^{·+}.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent comparés à des antioxydants de synthèse, à savoir le BHA, l'acide ascorbique et le Trolox.

V.3.1. EFFET SCAVENGER DU RADICAL DPPH

L'activité scavenger du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm, cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par l'extrait des plants pendant 30 min à l'obscurité par des dilution en cascade des différents extraits à tester (**Bondet et al., 1997**).

Une gamme de concentrations est faites allant de (30 à 500µg /ml) des extraits phénoliques des espèces étudiées vis à vis d'un standard (acide ascorbique). Les résultats obtenus sont exprimés dans l'annexe 4.

À une concentration de 50µg/ml, l'extrait de fruit de *citrus limon* montre une capacité réductrice du DPPH inférieur à celle montré par une étude faite par **Lin et ses collaborateurs** en (2012) qui est de 48,11% d'autre part les deux extraits ont exprimé des capacités d'inhibition relativement inférieures à celle de l'acide ascorbique (88,07%).

À une concentration de 200 µg/ml l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* montre ont une inhibition importante du radical DPPH[·] (98.12 ± 0.92 %) qui est très élevées par rapport aux pourcentages d'inhibitions enregistrés par les autres espèces étudiées qui varient entre 30.68 % et 92.34% comprenant l'acide ascorbique qui montre une activité qui est de 91.74%.

À une concentration de 500 µg/ml les extraits méthanoliques de *Inula viscosa*, *Fraxinus angustifolia* et *Pistacia lentiscus* révèlent une activité équivalente aux maximum (98.43, 96.92 et 93.1 respectivement) comparable à celle exprimées par l'acide ascorbique.

Ces résultats montrent que ces extraits possèdent une puissante activité à céder le proton pour neutraliser le radical DPPH.

Par contre, les autres extraits (*Aloe vera*, *Agave americana* et *citrus limon*) montrent

une faible inhibition radicalaire.

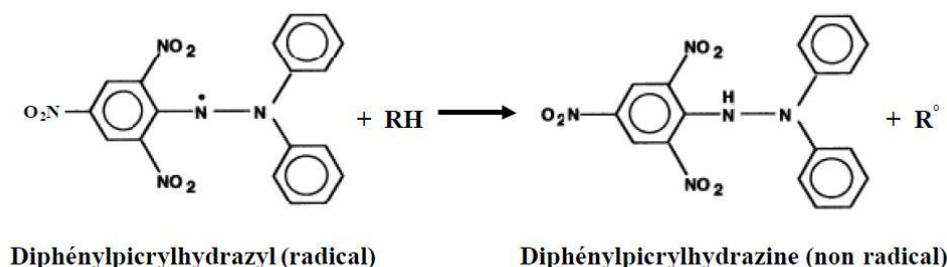


Figure 20: La réduction du DPPH par un antioxydant (*Molyneux, 2004*).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité antioxydante, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'-4' dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3OH sur le cycle C (*Amic et al., 2003*).

Une étude menée par Atmani et ses collaborateurs (**2009**) a montré que des extraits des feuilles de *Fraxinus angustifolia* préparées par trois solvants différents présentent un effet scavenger du radical DPPH de 78, 90 et 89 % à une concentration de 100 µg/ml qui sont des pourcentages faibles par rapport à celle enregistrée par notre extrait.

La même étude a montré que l'extrait chloroformé de *Pistacia lentiscus* a un pourcentage de 90% qui est inférieure à celle de l'extrait étudié (92.19 %).

➤ DÉTERMINATION DE L'IC50

L'IC50 est la concentration d'extrait de plante ou de standard qui inhibe 50% du radical DPPH.

Les valeurs de l'IC50 ont été calculées en utilisant le logiciel ICEstimator version 1.2 [en ligne] d'où son principe est d'effectuer une courbe non linéaire des pourcentages d'inhibition et les différentes concentrations. La courbe résultante est de modèle sigmoïde P_{max} qui montre une diminution du pourcentage d'inhibition de l'extrait de 100% quand la concentration est de 0 à un pourcentage de 0% quand la concentration tend vers l'infini.

Les valeurs de l'IC50 et du pouvoir anti-radicalaire sont démontrées dans le tableau. La comparaison entre les différentes valeurs de l'IC50 et ARP a été illustrée dans la Figure 21.

Tableau n° II: les différentes valeurs d'IC₅₀ et pouvoir anti-radicalaire (ARP) obtenu par les extraits de la présente étude.

Les extraits	IC ₅₀ (µg/ml)	ARP
<i>Agave americana</i>	27.5	0.036
<i>Ajuga iva</i>	28.96	0.034
<i>Aloe vera</i>	48.15	0.020
<i>Citrus limon</i>	80.56	0.012
<i>Fraxinus angustifolia</i>	91.06	0.010
<i>Inula viscosa</i>	24.62	0.040
<i>Pistacia lentiscus</i>	29.21	0.034
Acide ascorbique	16.34	0.061
BHA	24.48	0.040

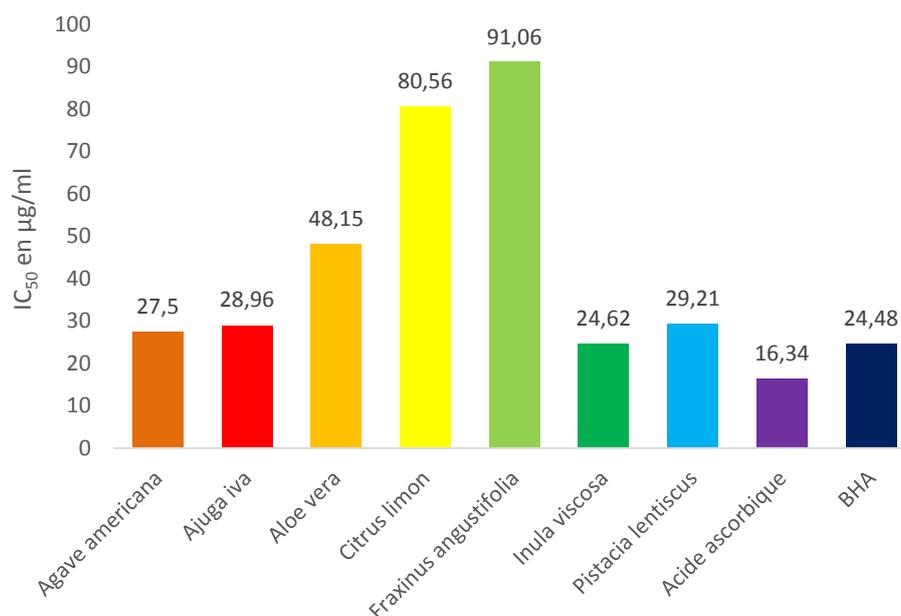


Figure n° 21: les valeurs d'IC₅₀ enregistré par les extraits de plantes étudiées.

Les extraits qui présentent la valeur la plus faible d'IC₅₀, présentent l'activité antioxydante la plus importante, donc l'extrait méthanolique d'*Inula viscosa* possède une meilleure activité antioxydante par rapport au BHA et aux autres extraits de plantes étudiées.

Les résultats ont montré que les extraits possèdent un potentiel antioxydant puissant, *Inula viscosa* représente une activité antioxydante plus élevée par rapport à celles des autres extraits de plantes étudiées suivie par les extraits de *Agave americana*, *Ajuga iva* et *Pistacia lentiscus*. Une valeur appréciable montrée par l'extrait d'*Aloe vera* et une valeur très faible

montré par les extrait de *Citrus limon* et *Fraxinus angustifolia*. De plus les extraits étudiés ont montrés une activité inhibitrice relativement comparable aux standards (BHA et acide ascorbique).

Une étude effectuée par Atmani et ses collaborateurs (2009) sur des extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme de plantes de *Fraxinus Angustifolia* présente une valeur d'IC₅₀ (10 µg/ml et 10.04 µg/ ml respectivement) qui sont des valeurs très importantes par rapport à celle enregistrée par l'extrait de notre présente études.

La même étude est faite sur l'extrait d'acétate d'éthyle et de chloroforme de *Pistacia lentiscus* a montré une IC₅₀ (50,03 µg/ ml et 50,10 µg/ ml respectivement) qui sont des valeurs moins importantes par rapport à celle obtenus par notre extrait.

Une autre étude a été effectuée par Chahmi et ses collaborateurs (2015) sur les extraits d'acétate d'éthyle et d'éthanol d'*Inula. Viscosa*, de trois régions dont les valeurs de l'IC₅₀ égalent à (0.28 mg/ml et 0,20mg/ml respectivement).

La variation entre les valeurs obtenues est due à plusieurs critères qui influencent sur l'activité antioxydante et les valeurs de l'IC₅₀.

Les travaux de Baratto et ses collaborateurs (2003) montrent que les dérivés quinic 3,5-Odigalloyl quinic, 3,4,5-O-trigalloyl quinic, acide gallique, et le 5-O-galloyl quinic, extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une activité scavenger importante vis-à-vis du radical DPPH. La présence de l'α-tocophérol (0,005308 %) dans les feuilles de *Pistacia Lentiscus* explique l'activité antioxydante des extraits (Kivaçak et Akay, 2005).

On conclut d'une manière générale, que tous les extraits méthanoliques testés, ont provoqué une inhibition plus ou moins importante de DPPH selon leurs concentrations.

V.3.2. EFFET SCAVENGER DU RADICAL ABTS^{•+}

L'ABTS^{•+} est un autre radical plus réactif que le DPPH[•]. Les réactions avec les radicaux DPPH[•] impliquent le transfert d'atomes d'hydrogène et d'électron. L'ABTS^{•+} a des avantages d'être plus polyvalent que le DPPH[•], parce qu'il est soluble dans l'eau et les solvants organiques, ce qui permet l'évaluation de l'activité de piégeage pour les échantillons hydrophiles et lipophile (Gülçin, 2012).

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydo-réduction de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))

(Figure 22). Au cours de ce test le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cation

(ABTS•+) de couleur sombre 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.

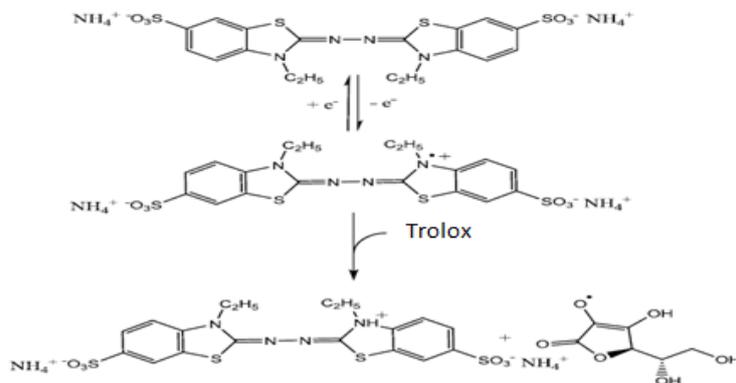


Figure 22: Formation de piégeage du radical ABTS par le trolox (MUANDA., 2010).

Tous les extraits montrent une activité antioxydante et une capacité de nettoyer le radical d'ABTS +. L'augmentation de pourcentage d'inhibition pour chaque extrait dans les intervalles du temps de six minutes (6 min) est déterminée et présentée dans la figure. Tous les extraits présentent une variation hyperbolique de la puissance d'inhibition avec une concentration similaire de l'extrait de 1mg/ml. À cette concentration on mesure la densité optique à 734 nm. Les valeurs obtenues des D.O ont permis de tracer des courbes ayant des allures hyperboliques. Nous avons réalisé un suivi de la réaction de réduction par mesure de l'abaissement de l'absorbance dans le temps (Annexe 5).

Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait a été calculé et représenté dans la figure 23. Une allure hyperbolique a été montrée par tous les extraits.

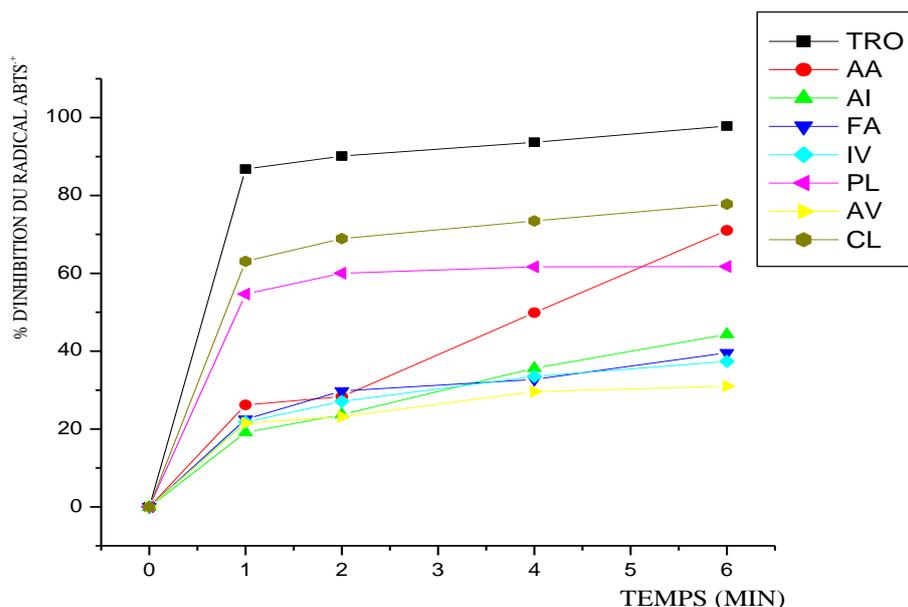


Figure 23: Évaluation du pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^+$ en fonction du temps.

(Tro= Trolox ; AA= Agave americana ; AI= Ajuga iva ; FA= Fraxinus angustifolia; IV= Inula viscosa; PL= Pistacia lentiscus; AV= Aloe vera; CL= Citrus limon)

D'après ces résultats on remarque que le taux de chaque extrait augmente avec le temps. Le plus important taux est enregistré par l'extrait de *Citrus limon* dès la première minute avec un taux de 63.09 ± 0.696 qui est faible par rapport à celui du trolox (86.77 ± 0.457).

La même plante présente le meilleur taux d'inhibition après la sixième minute (81.98 ± 1.23) suivie par l'extrait d'*Ajuga iva* avec 71.02 ± 0.35 %, puis *Pistacia lentiscus* (61.76 ± 0.76), ensuite *Agave americana* avec 44.3 ± 0.36 %. Les extraits de *Fraxinus angustifolia*, *Inula viscosa* et *Aloe vera* ont montré le faible taux d'inhibition pour le radical $ABTS^+$ (39.57 ± 0.97 , 37.38 ± 0.78 et 31.98 ± 0.65 % respectivement) (Figure 24).

Les pourcentages obtenus par la présente étude sont moins importants par rapport à celle enregistrée par le trolox qui est de 97.84 ± 0.62 %.

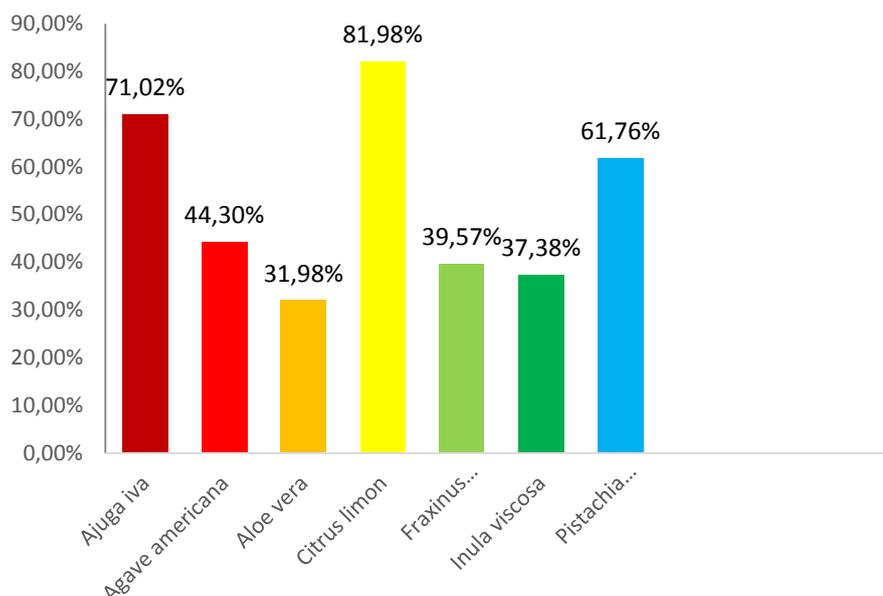


Figure 25: Pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ par les extraits des plantes étudiées a une concentration de 1mg/ml.

Plusieurs études ont montré que l'activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical ABTS est très influencé par le solvant d'extraction ce qui peut être expliqué par la variation de la quantité et la qualité des antioxydants en fonction de la nature du solvant utilisés (**Gloegel et al., 2011**).

Manian et ses collaborateurs(**2008**) ont rapporté que les composés phénoliques au poids moléculaire élevé ont plus de capacité pour capter les radicaux libres d'ABTS⁺

V.4. ÉVALUATION DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE

La mesure de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique est l'une des méthodes les plus utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante.

Lors de la peroxydation lipidique, les antioxydants peuvent céder des protons ou des électrons aux différents radicaux lipidiques, mettant la fin à la réaction en chaîne (**Ré et al., 2005**).

Les mesures d'absorbances de l'acide linoléique en présence des différents extraits de plantes étudiées sont exprimées dans l'annexe 6.

D'après les figures ci-dessus, on constate que tous les échantillons ont montré une absorbance faible et égale à 0.072 pendant le premier jour, ce qui explique que les échantillons n'ont aucune activité au bous de ce premier jours puis elle commence à s'augmenté légèrement jusqu'au troisième jour où les extraits montre une absorbance maximal.

À partir du quatrième jour en constate une diminution de l'absorbance pour tous les

extraits sauf celui d'*Inula viscosa* qui continue d'augmenter jusqu'à atteindre une absorbance maximale qui est de 0.527 et qui commence à diminuer à partir du cinquième jour jusqu'à atteindre une valeur de 0.072 le sixième jour.

Les pourcentages d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique par les extraits de plantes étudiées sont résumés dans la figure 26 qui suit.

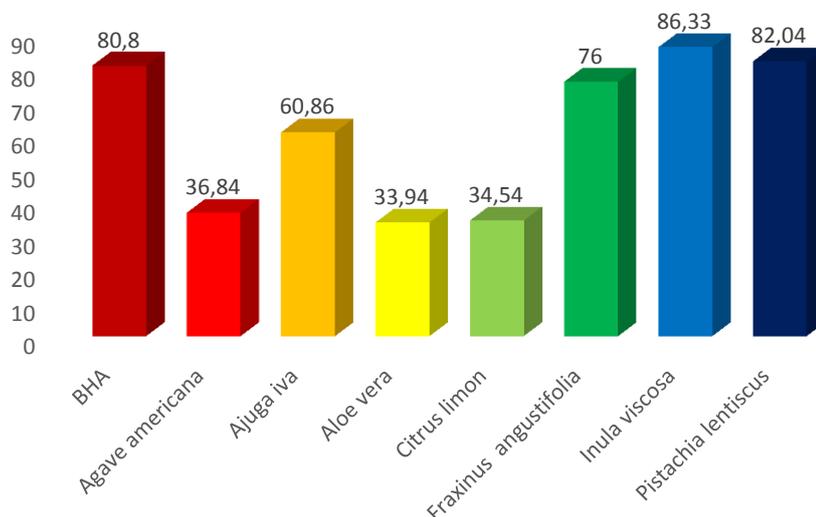


Figure n°26 : représentation graphique de l'inhibition de peroxydation lipidique de l'acide linoléique par les extraits des plantes étudiées.

Dans la présente étude, le taux d'oxydation a été estimé par la méthode colorimétrique au FTC qui permet d'évaluer le taux de peroxydes présents dans le milieu réactionnel. On a mesuré l'inhibition de la peroxydation lipidique toutes les 24 h jusqu'à stabilisation de l'absorbance du blanc après six jours.

La figure ci-dessus montre clairement que tous les extraits ont montré une activité inhibitrice de l'acide linoléique allant de 33.96 à 86.33. Cela indique un bon pouvoir protecteur de la peroxydation lipidique par ceux-ci et la présence des composés bioactifs de différents extraits peut-être responsable de cet effet.

Les extraits de *Pistacia lentiscus* et *Inula viscosa* (86.33 et 82.04) ont montré des pourcentages d'inhibition plus élevés par rapport à celui exprimés par le standard (80.8).

Les extraits de *Fraxinus angustifolia*, *Ajuga iva* (76, 60.8 respectivement) qui ont montré une inhibition moyenne de la peroxydation. Un faible taux d'inhibition a été montré par les extraits de l'*Agave americana*, *Citrus limon* et *Aloe vera* (34.84, 34.54 et 33.94).

Ces résultats indiquent un bon effet inhibiteur de la peroxydation lipidique par les

différents extraits qui serait dû à la présence des composés phénoliques qui pourrait être responsables de cet effet.

La diminution ou l'augmentation des activités des différents extraits peut être expliqué par la structure du composé ou par l'effet de sa concentration dans l'extrait. En effet des études réalisés sur l'effet des composés donneurs d'hydrogène tel que les polyphénols sur la peroxydation des lipides dépend de la structure moléculaire du composé lui-même (**Zhang et al., 2000 ; soobratee et al., 2005**).

L'inhibition de la peroxydation est due à la présence des molécules phytochimiques qui peuvent rompre la chaîne réactionnelle de l'oxydation lipidique au niveau de l'étape d'initiation avec la formation d'un radical libre relativement stable qui ne peut initier ou propager d'autre processus d'oxydation. Le potentiel élevé des composés antioxydants à scavenger les radicaux libres peut être expliqué par leurs richesses en groupe OH phénolique (**Debbache et al., 2014**).

Les résultats obtenus suggèrent que le niveau de l'activité antioxydants propose que l'utilisation des variétés en composés phénoliques fournissent l'accomplissement de cet aperçu, et d'employer des plantes médicinales qui peuvent être source riche et intéressante pour les études phytochimiques.

CONCLUSION

La présente étude s'intéresse à l'extraction des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydant (anti-DPPH. et anti-ABTS.+) et l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des composés phénoliques extraites à partir des feuilles de *Ajuga iva*, *Aloe vera*, *Agave americana*, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, *Inula viscosa* et le fruit de *Citrus limon* d'une part et la détermination de la teneur en composés phénoliques de chaque extrait (phénols totaux, flavonoïdes) d'autre part.

L'ensemble des résultats obtenus au cours des analyses quantitatives par spectrophotométrie nous a permis de trouver des teneurs en polyphénols totaux très variables entre les différents extraits allant de 3.52 mg EAG/g E jusqu'à 82.5 mg EAG/g E, le meilleur taux est enregistré par l'extrait d'*Inula Viscosa* (82.5 mg EAG/g E) et des teneurs en flavonoïdes qui varient entre 36.33 et 3.79 mg EQ/g E.

L'activité antioxydante des différentes plantes a été déterminée par les tests d'ABTS et de DPPH.

L'évaluation du potentiel antioxydant des plantes étudiées par le test DPPH à une gamme de concentration de 30-500 µg/ml a révélé que la plupart d'entre elles possède une activité antioxydante très remarquable telle que l'extrait d'*Inula Viscosa* qui présente une IC50 très faible (24.62 µg/ml) par rapport aux autres extraits de plantes étudiées, ce qui prouve que cette plante possède une forte activité antioxydantes. Par contre les extraits de *Fraxinus Angustifolia* et *citrus limon* montre une IC50 très élevé (91.06 et 80.56 respectivement) donc elles possèdent un pouvoir anti-radicalaire très faible.

L'évaluation de l'activité antioxydante contre le radical ABTS.+ à une concentration de 1mg/ml a montré que l'extrait de *Citrus limon* manifeste un taux d'inhibition très important par rapport aux autres extraits avec une valeur de 81.98 %.

L'évaluation de l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique, tous les extraits ont montré une bonne activité inhibitrice allant de 33.94 enregistré par l'*Aloe vera* jusqu'à 86.33 exprimé par *Inula Viscosa*.

Ces activités peuvent être attribuées à la présence de composés phénoliques dans les extraits de plantes étudiées, en effet une corrélation positive a été trouvée entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité anti ABTS.+ aussi les teneurs en flavonoïdes et l'activité anti DPPH. Comme il y a une corrélation positive entre la teneur en polyphénols, la teneur en flavonoïdes et l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique.

Ces plantes pourraient être considérées donc comme des sources d'antioxydants naturels pour des fins médicaux en particulier le traitement des affections liées à la peroxydation lipidique.

Lors de ce travail, on a pu estimer un très bon effet sur l'activité antioxydante en particulier la peroxydation lipidique par le extraits des plantes étudiées néanmoins des études in vivo sont nécessaire pour confirmer plus la qualité avantageuse de ces extraits de plantes ainsi que l'identification de molécules responsables de différents effets thérapeutiques en effectuant des analyses plus avancées, utilisant des méthodes plus performantes tel que l'HPLC et RMN...

REFERENCES
BIBLIOGRAPHYQUES

A

1. Adjadj, M. (2009). Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L.) Schreber. Thèse de magister : Université Mentouri Constantine.
2. Alonso, A, M., Oliveros, B, A and Calcagno, P, M.P. (2007). Phenolics and condensed tannins of high altitude *Pteridium arachnoideum* in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35:1-10.
3. Amic, D., Davidovic A, D., Beslo, D and Trinajstic, N (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemical Acta*, 76, p55-61.
4. Amzal, H. (2010). Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat, Université Mohammed V Agdal.
5. Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N and Atmani, N. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112:303-309.
6. Arora, A., Sairam, R., Srivastava, G. (2002). Oxidative stress and antioxydatif system in plants. *Current Science*, 82: 1227-1238.

B

7. Babae, N., Zabihi, E., Mohseni, S and Moghadamnia, A.A. (2012). Evaluation of the therapeutic effects of Aloe vera gel on minor recurrent aphthous stomatitis. *Dent Res J*: vol 4, p381-385.
8. Baratto, M.C., Massimiliano, T., Carlotta, G., Patrizia, P., Annalisa, R., Francesco, V., Riccardo, B and Rebecca. (2003). Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *P. lentiscus* Leaves. *Free Radic Res*, 37(4), 405–412.
9. Benbrook, C.M. (2005). Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center for Education and Promotion, vol 45.
10. Baghiani, A., Boumerfeg, S., Adjadj1, M., Ameni, Dj., Djermouni, M., Khelifi T, K., Charef, N., Khennouf, S and Arrar, L. (2011). Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga iva* L. Extracts. *Free Radicals and Antioxidants*: Vol 1, Issue 4. P 21-30.

11. BIDIE, A.D., Banga, B., GUESSAN., Adou, F. Y and DJAMAN, A.J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8 (1): 1 – 11.
12. Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. p79-82.
13. Boudjelal, A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. These de doctorat : Université Badji Mokhtar Annaba.
14. Bougandoura, N and Bendimerad, N. (2013). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09 :14 – 19.
15. Blancke, R. (2001). Guide des fruits et légumes tropicaux. Ed Eugen Ulmer, Paris. P288.
16. Bondet, V., Williams, W.B and Berset, C. (1997). Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie*, 30: 609-615.
17. Boullard, B.(2001). Plantes médicinales du monde, croyances et réalités. *Edition Estem*, p.27.
18. Bousseboua, H. (2006). The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: *relation between the anti and prooxydant effect and flavonoids concentration*. *Thérapie*, vol61, N 4, p 347-355.
19. Brand.W, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.Wiss. Technol.* vol28: p 25-30.

C

20. Caree, P. (1953). Précis de technologie de chimie industrielle. T3.Ed. Ballière JB. ET fils.

21. Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K and El Hassouni, M. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pac J Trop Biomed*, 5(3): 228-233
22. Chan, E.W.C., Y.Y., Lim, S.K., Wong, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S and Yong, M.Y. (2009). Effect of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger spices. *Food chemistry*, 113: 166-172.
23. Chattopadhyay, D.P., J.S. Khan, 2012. *Agave americana* : A new source of textile fiber. *Textile Potpourri*.
24. Cork, S.J and Krochenberg, A.K. (1951). Methods and pitfalls of extracting condensed tannin and other phenolics from plants: insights from investigation on eucalyptus leaves. *Journal of chemical ecology*, 17 (1): 123-134.

D

25. Debbache, N., Atmani, D and Atmani, D.(2014). Chemical analysis and biological activities of *populus nigra* ,flower buds as source of propolis in Algeria. *Industrial crops and products*. (53) 85-92.
26. Delattre, J and Beaudeau, J.L., (2005). Bonnefort-Rousselot, D. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspect biologiques et pathologiques*. Tec & Doc Lavoisier: Londres, Paris, New York.
27. Devaraj, S., Yimam, M., Brownell, L.A., Jialal., I, Sinigh, S and Jia, Q. (2013). Effects of Aloe vera supplementation in subjects with prediabetes/metabolic syndrome., *Metab Syndr Relat Disord* : vol11, p35-40.
28. Dianzani, M and Barrera, G. (2008) Pathology and physiology of lipid peroxidation and its carbonyl products. In: Álvarez, S.; Evelson, P. (ed.), *Free Radical Pathophysiology*, p. 19- 38.
29. Djeridane, A., Yousfi, B., Nadjemi, B., Vidal, N and Lesgards, P. F.(2007). Stocker Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. J. Food Res. Tech.*, 224 : 801–809

E

30. El-beltagi, Hossam, S and Mohamed, H. I. (2013). Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism. *Not Bot Horti Agrobo*, vol 41, N 1, p44-57.

31. El Hilaly, J., Lyoussi, B., Wibo, M and Morel, N. (2004). Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology* : vol 93, p69-74.
32. Engelmann, M.D., Hutcheson, R and Cheng, I.F. (2005). Stability of Ferric Complexes with 3- Hydroxyflavone (Flavonol), 5,7-Dihydroxyflavone (Chrysin), and 3',4'-Dihydroxyflavone. *J. Agric. Food Chem*, vol 53, N 8, p 2953-2960.

F

33. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, p : 108- 115.
34. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. F*, vol 64, p 390-396.
35. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. and Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331(5): 372–379.
36. Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Thèse de magister : Université Ferhat Abbas –Setif.
37. Floegel, A., Kimb, D.O., Chang, S.G., Koo, S.I and Chun, O.K. (2011). Composition of ABTS/ DPPH assay to measure antioxydant capacity in popular antioxidant- rich US. *Foods Journal of food composition and analysis*, (24): 1043- 1048.
38. Fouché, J.G., Marquet, A and Hambuckers, A. (2000). Les plantes médicinales: de plantes au médicament. *Observatoire du monde des plantes* : 1- 5.

G

39. Gentry, H.S. (1982). *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press, Tucson, 61, 382-586.
40. Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3): 345-391.

H

41. Halimi, A. K. (2004). *Les plantes médicinales en Algérie*. Editions BERTI, Alger. p156-157.

42. Hsieh, C. W., Cheng, J.Y., Wang, T.H., Wang, H. J and Ho, W. J. (2014). Hypoglycaemic effects of Ajuga extract in vitro and in vivo. *Journal of functional food*, 224–230.

43. Hsu, C. F., Zhang, L. J., Peng, H., Travas-Sejdic, J and Kilmartin, P. A. (2008). Scavenging of DPPH free radicals by polypyrrole powders of varying levels of overoxidation and/or reduction. *Synthetic Metals*, 158, 946–952 .

J

44. Jazet Dongmo, P.M., Tchoumboungang, F., Boyom, F. F., Sonwa, E.T., Amvam Zollo, P. H and Menut, C. (2013). Antiridical, antioxydant activities and anti-inflammatory potencial of the essential oils of the varieties of *Citrus limon* and *Citrus aurantifolia* growing in Camroon. *Journal of Asian Scientific Research*, (3), 10: 1046-1057.

K

45. Kim, D., Jeong, S.W and Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81: 321-326.

46. Kivçak and Akay, S. (2005). Quantitative Determination Of alpha–Tocopherol in *Pistacia Lentiscus*, *Pistacia Lentiscus* Var. Chia, and *Pistacia Terebinthus* by Tlc Densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, 7: 62–66.

47. Koechlin . R, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes, ou un aspect différent de la nutriyion dans les maladies resperatoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20 :165-177.

L

48. Lahouel, M., Amedah, S., Zellagui, A., Touil, A., Rhouati, S., Benayache, F., Leghouchi, E and Bousseboua, H. (2006). The interaction of new plant flavonoids with rat liver mithochondria: relation between the anti and prooxydant effect and flavonoids concentration. *Thérapie*, vol 61, N 4, p 347-355.

49. Leake, D.S. (1998) Effects of flavonoids on the oxidation of low-density lipoproteins. In *Flavonoids in health and disease*, Rice-Evans, C. A.; Packer, L., Eds. Marcel Dekker: New York, p 253-276.

50. Lin, J-T., Chen, Y-C., Lee, Y-C., Rolis H, C-H., Chen, F-L and Yang, D-J. (2012). Antioxidant, anti-proliferative and cyclooxygenase-2 inhibitory activities of ethanolic extracts

from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *LWT - Food Science and Technology* 49 : 1-7

51. Liu, L.Y., Chen, X.D., Wu, P.A and Jiang. (2010). Influence of Aloe polysaccharide on proliferation and hyaluronic acid and hydroxyproline secretion of human fibroblasts *in vitro*. *Q Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*: p 256-262.

M

52. Macheix, J.J., fleuriet,A and Allemand, C.H. (2005) .Les compose phénoliques des végétaux. *presses polytechniques et Universitaires romandes*: 1-31.

53. Magalha, L., Segundo, M., Reis, S and Lima. J, L.F.C. (2008). Methodological aspect about in vitro evaluation of antioxydant properties. *Atlantica chimica acta*: Vol 613, p 1-19.

54. Manian, R., Anusuya, N., Siddhuraju, P and Manian, S. (2008) The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem.* 107(3), 1000-1007.

55. Menyar. B, A., Seffen, M., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Perego, P AND Converti, A. (2012).Phenolics extraction from *Agave americana* (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor food and bioproducts processing, 90: 17–2.

56. Muanda N, F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat : Université Paul Verlaine-Metz. Soutenu le 25 novembre 2010. P 187-188.

57. Maruti, J. D., Chidamber, B. J., Jai, S.G and Kailash, D. S.(2011). Study Antimicrobial Activity of Lemon (*Citrus lemon* L.) Peel Extract. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. Vol 2, N 3, p119-122.

58. Michayewicz, N. (2013). L'*Aloe vera*, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques. Plante miracle. thèse de doctorat : Université de Lorraine, soutenue le 29/10/2013. P 62-63.

59. Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarini J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

60. Moniruzzaman, M., Begum. R., Sohel, A., Amrita B., Ibrahim, K and Siew, H.G.(2012). *In Vitro* Antioxidant Effects of *Aloe barbadensis* Miller Extracts and the Potential Role of These Extracts as Antidiabetic and Antilipidemic Agents on Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Model Rats. *Molecules*, (17), 12851-12867.

N

61. Nakagawa, Y. (2004). Initiation of apoptotic signal by the peroxidation of cardiolipin of mitochondria. *Ann N Y Acad Sci*, 10 (11):177-184.

62. Nejatizadeh.B, F.(2013). Antibacterial activities and antioxidant capacity of Aloe vera. *Medicinal Chemistry Letters*, 3:5.

63. Nour,V., Stampar , F., Veberic, R and Jakopic, J.(2013). Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. *Food Chemistry*, 141: 961–966.

O

64. Osawa, T., and Namiki, M. (1981). A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agricultural Biological Chemistry*, 45(3), 735–739.

65. Owen, P. L and Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology* (64):149–160.

66.

P

67. Pourrut, B. (2008) .Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse, France.

68. Popovici, K., Saykova, I and Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *e-Revue de génie industriel*, (4) : 1313-8871.

R

69. Rahmani, H., Toumi.B, F., Koudach, F., Mahmoud.D, M., Mekhfi, N., Nouredine, N., Moumen, F and Rahmani, M.(2015). First determination of phenolic compound concentration

and antioxydant activity of *Agave americana* leaves extracts from different regions of Algeria (NW). *Global journal of medicinal plant research*, 3(3) : 1-6.

70. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M and Rice. E, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical Cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, 1231–1237.

71. Ré, D.B., Nieoullon, A., Kerkerian., Le Goff, L and Had. A. (2005). Stress oxydatif cerebral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? implications sur la survie neuronale, *Annales française d'anesthésie et de réanimation*, (24) : 502-509.

72. Repetto, M.G., Ferrarotti, N.F and Boveris, A. (2010). The involvement of transition metal ions on iron- dependent lipid peroxidation. *Archives of Toxicology*. Vol. 84, p 255-262.

73. Ribereau. G. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod. Paris.

S

74. Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.

75. Singleton, V.L and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-153.

76. Spigno, G., Tramelli, L and De Faveri, D.M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Jornal of food engineering*, 81: 200–208.

77. Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon. R, A., Aruoma, O.I and Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanisms and actions. *Mutation Research*, 579: 200-213.

T

78. Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M.A. and Bouchenak, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* : vol16, p 623–631. <http://www.elsevier.de/phytomed> (consulté le 02/11/2014 9:10).

V

79. Vansant, G. (2004). Radicaux libre et antioxydants : principe de base symposium. *Antioxydant et alimentation*, Institut Danone.

W

80. Winkel.S, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol 5, N 3, p 218-223.

81. Wu, P., Ma, G., Li, N., Deng, Q., Yin, Y and Huang, H. (2015). Investigation of in vitro and in vivo antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. *Food Chemistry* (173): 194–202.

Z

82. Zhang, P., Timakov, B., Stankiewicz, R.L., Turgut, I.Y. (2000). A trans-activator on the *Drosophila* Y chromosome regulates gene expression in the male germ line. *Genetica* 109(1-2): 141-150.

ANNEXES

Plants	Masse	Poids utilisé (g)	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)
<i>Ajuga iva</i>		20g	1,81g	9,05%
<i>Agave americana</i>		05g	1,72g	35,2%
<i>Aloe vera</i>		0.61g	0.04g	6.55%
<i>Citrus limon</i>		2.3g	0.34g	14.78%
<i>Fraxinus angustifolia</i>		20g	3,4g	17%
<i>Inula viscosa</i>		20g	2,97g	14,85%
<i>Pistacia lentiscus</i>		20g	2,8g	14%

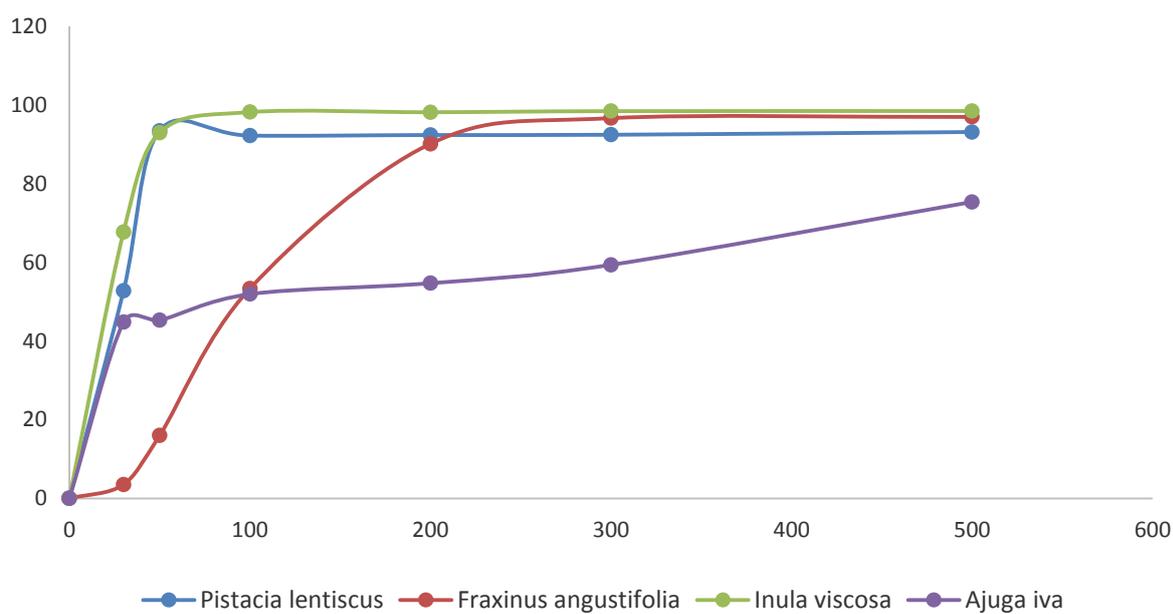
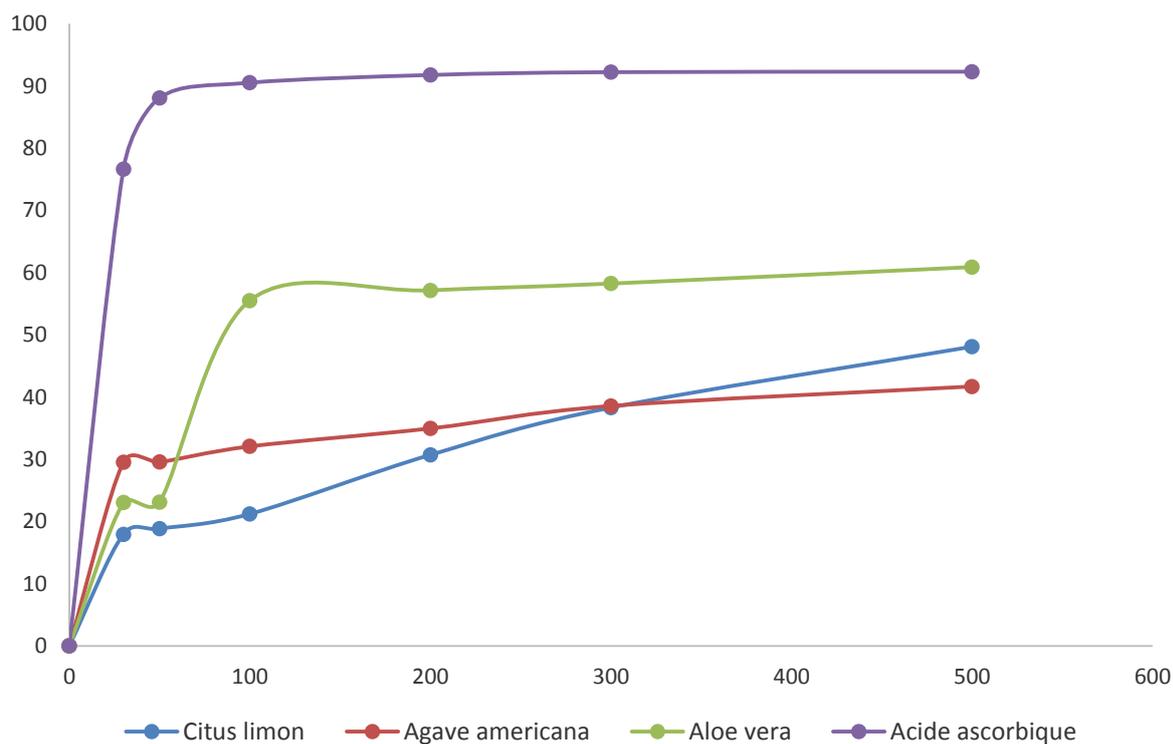
Annexe 1 : Rendement des extraits méthanoliques des feuilles des plantes étudiées.

Extraits	Teneur en polyphénols (mg EAG/g E)
<i>Agave americana</i>	6.85 ± 0.484
<i>Ajuga iva</i>	30.61 ± 0.356
<i>Aloe vera</i>	3.52 ± 0.614
<i>Citrus limon</i>	41.39 ± 0.834
<i>Fraxinus angustifolia</i>	26.45 ± 0.584
<i>Inula viscosa</i>	82.51 ± 0.404
<i>Pistacia lentiscus</i>	41.63 ± 0.398

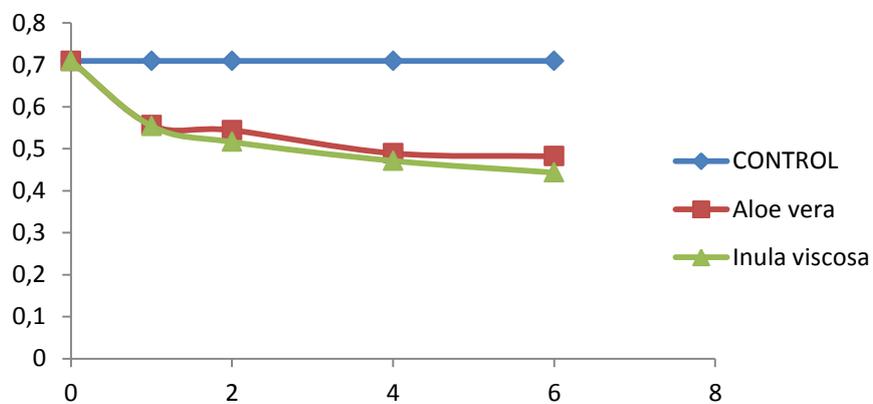
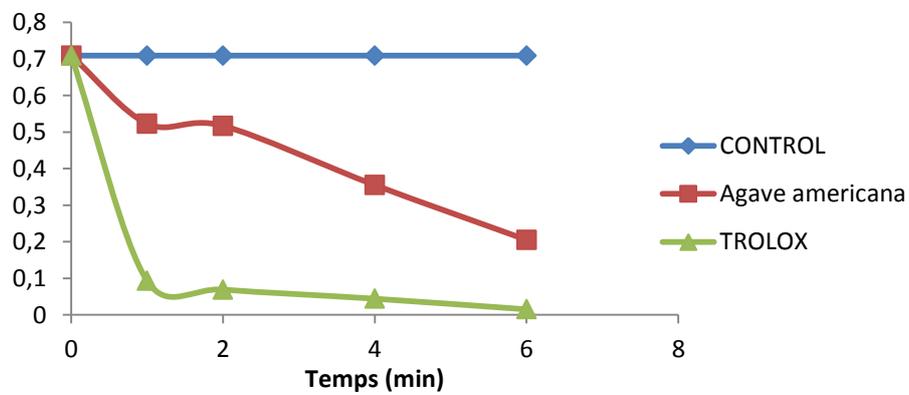
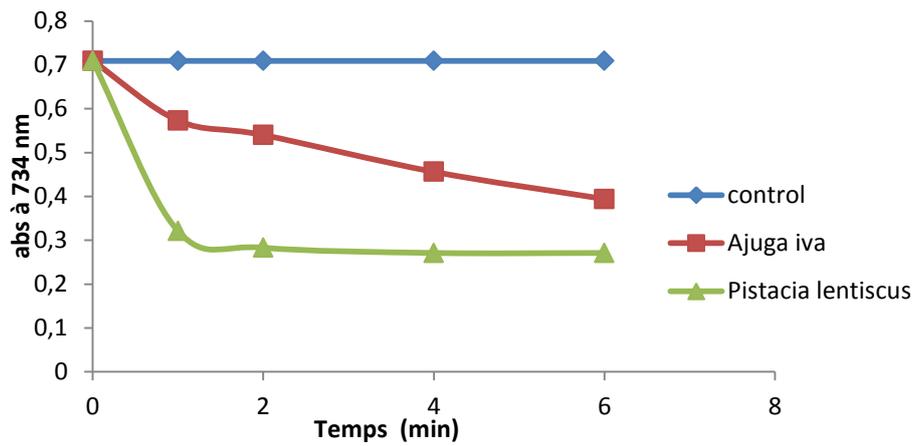
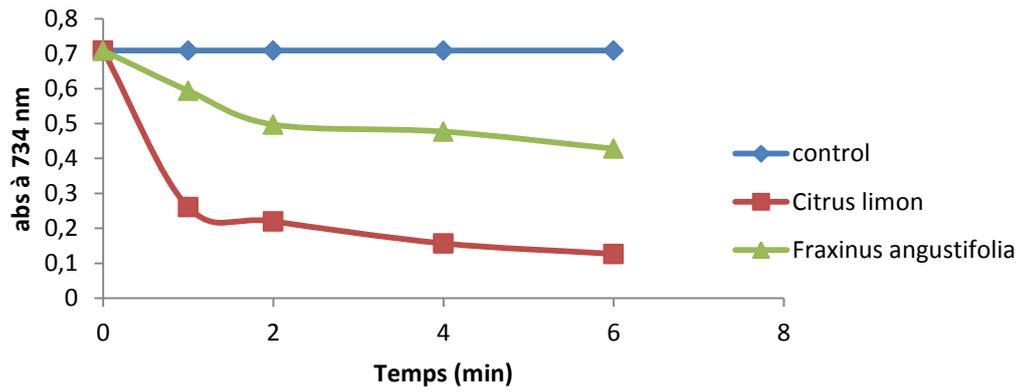
Annexe n° 2 : Teneur en phénols totaux des différents extraits méthanoliques

Extraits	Teneur en polyphénols (mg EQ/g E)
<i>Agave americana</i>	3.79 ± 0.268
<i>Ajuga iva</i>	17.79 ± 0.541
<i>Aloe vera</i>	Traces
<i>Citrus limon</i>	6.36 ± 0.880
<i>Fraxinus angustifolia</i>	11.75 ± 0.875
<i>Inula viscosa</i>	36.33 ± 0.759
<i>Pistacia lentiscus</i>	15.81 ± 0.539

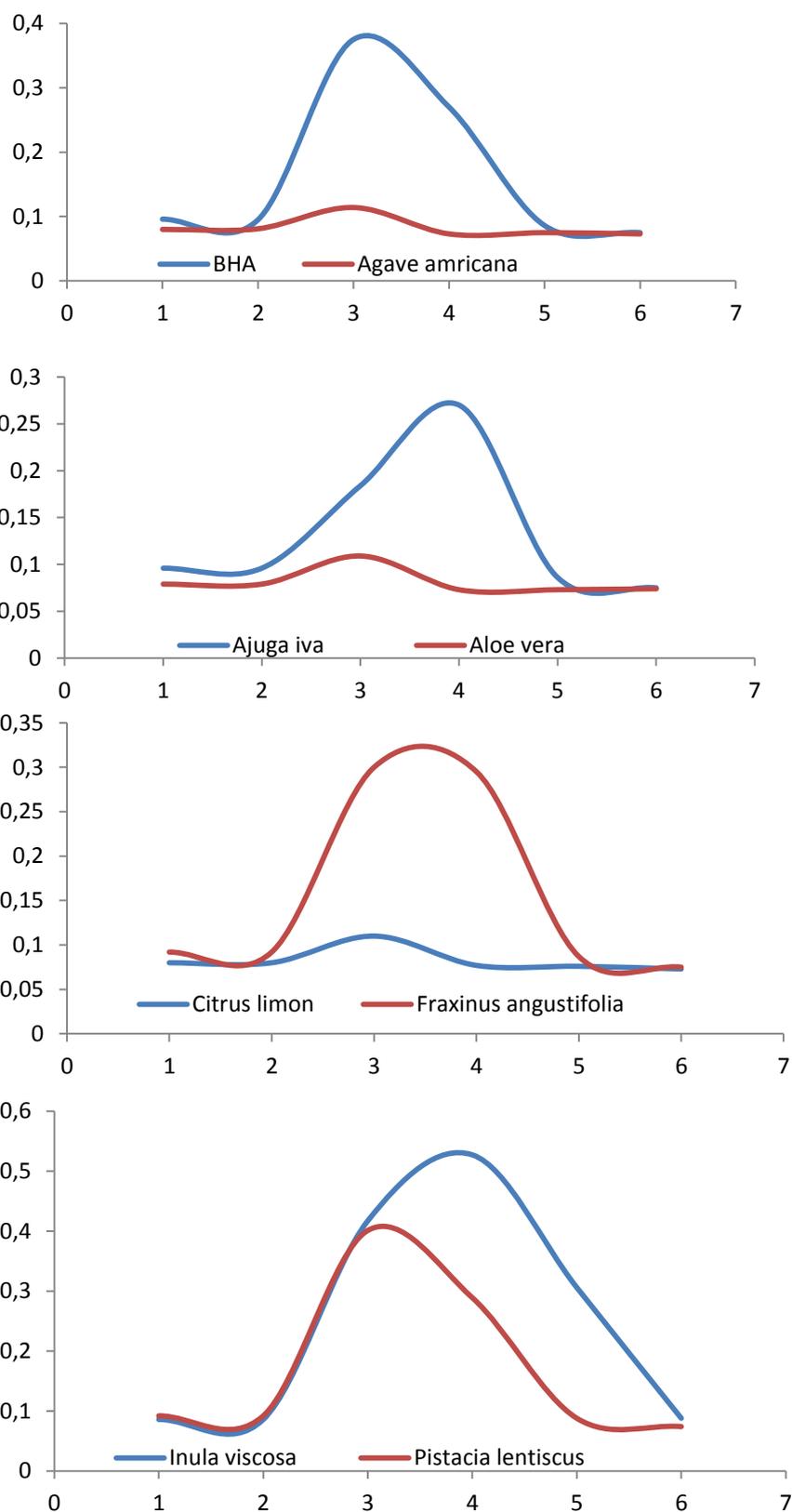
Annexe n° 3 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits méthanoliques.



Annexe 4: les pourcentages d'inhibition des extraits méthanoliques des plantes étudiées.



Annexe 5: Évaluation de la DO de l'ABTS en présence de l'extrait en fonction du temps.



Annexe 6: représentation graphique des absorbances de l'acide linoléique en présence des différents échantillons et de standard.

Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, des extraits méthanoliques des feuilles d'*Ajuga iva*, *Aloe vera*, *Agave americana*, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, *Inula viscosa* et le fruit de *Citrus limon* ont été testés pour leurs activités antioxydantes et leurs effets inhibiteur de la peroxydation lipidique.

L'évaluation du pouvoir antioxydants in vitro a révélé des capacités antioxydant chez tous les extraits. Les activités les plus potentielles par le mécanisme de piégeage des radicaux libres par la méthode de DPPH a prouvées par l'extraits de *Inula viscosa* ($IC_{50} = 24,62 \mu\text{g/ml}$) possède une activité très importante, et par la méthode d'ABTS, l'extrait de citrus limon a montré que l'activité inhibitrice d'ABTS plus élevée (81,98%) par rapport aux autre extraits. Pendant l'inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique, tous les extraits ont présenté une bonne activité inhibitrice.

Les résultats de dosage suggère que l'activité antioxydante n'est pas en relation direct avec la quantité en compose phénolique .en effet, l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique inclus plusieurs mécanisme.

Mots-Clés : plantes médicinales, extraits méthanoliques, activité antioxydante, DPPH, ABTS, peroxydation lipidique.

Abstract

As part of a development of natural resources, methanol extracts of the leaves of *Ajuga iva*, *Aloe vera*, *Agave americana*, *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, *Inula viscosa* and *Citrus limon* fruit were tested for their antioxidant activities and lipid peroxidation.

The evaluation in vitro of the antioxidant power revealed antioxidant capacity among all sample. The most potential activities by the trapping mechanism of free radicals by DPPH method has proven by extracts of *Inula viscosa* ($IC_{50} = 24.62 \text{ g / ml}$) has a very important activity, and by the method of ABTS , the extract of *Citrus limon* showed the highest inhibitory activity of ABTS radical (81.98%) compared to other extracts. For inhibition of lipid peroxidation of linoleic acid, all samples showed a good inhibitory activity.

The assay results suggest that the antioxidant activity is not directly related to the amount of phenolic consists .in fact, the inhibitory activity of lipid peroxidation included several mechanism.

Key words: medicinal plants, methanol extracts, antioxidant activity, DPPH, ABTS, lipid peroxidation.