

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abderahmane Mira de Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**

*Laboratoire de Biomathématiques, Biochimie, Biophysique et de Scientométries*  
**L3BS**

## **Mémoire de Magister**

En vue de l'obtention du diplôme de Magister  
En Sciences Alimentaires  
Option : Sciences Alimentaires

### **Thème**

**Étude de quelques propriétés  
biologiques  
des extraits polyphénoliques de cinq  
plantes médicinales de**

**Soutenu devant le jury composé de :**

<b>Président</b> MAKHLOUFI L.	(Pr., Université de Bejaia)
<b>Promoteur</b> CHIBANE M.	(Pr., Université de Bejaia)
<b>Co-promoteur</b> MADANI K.	(M.C., Université de Bejaia)
<b>Examineurs.</b>	
Kaci Y.	(M.C., Université de USMB)
IGUER-OUADA M.	(M.C., Université de Bejaia)

**Année 2008**

## Remerciements

*Au terme de ce travail, il m'est agréable d'adresser mes remerciements à tous ceux qui m'ont octroyé main vigoureuse pour sa réalisation à :*

*Monsieur M. CHIBANE*

*Etre votre étudiante a été une chance que nous avons su saisir. Nous avons été comblé par les enseignements de qualité dont nous avons bénéficié à vos côtés. Votre disponibilité, votre rigueur et vos qualités intellectuelles forcent notre admiration, et font de vous les grands maîtres de notre faculté. Veuillez trouver ici cher Professeur, le témoignage de notre sincère reconnaissance.*

*Monsieur K. MADANI*

*Nous avons été satisfaits de vos qualités exceptionnelles de bon pédagogue. Votre simplicité et votre amour du travail font de vous un maître admirable dont l'exemple est à suivre. Recevez ici cher Docteur notre sentiment de respect et de gratitude.*

*Messieurs L. MAKHLOUFI, M. IGHER-OUADA, KACI*

*Nous sommes comblés de l'immense honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce modeste travail malgré vos nombreuses occupations. Votre Courtoisie, votre brillants esprits de chercheurs, et votre rigueurs scientifiques Veuillez trouver ici chers, mes sieurs l'expression de notre plus grand respect.*

*M<sup>elle</sup> A. MEKHOUKHE*

*Je tiens à te remercier très chaleureusement pour ton aide inestimable, tes encouragements. Qu'elle trouve ici l'expression de ma grande estime.*

*Personnel des laboratoires, enseignants, étudiants*

*Tout le personnel des différents laboratoires et surtout le laboratoire 3BS, est vivement remercié pour son engagement et sa disponibilité qui permet d'assurer un excellent cadre de travail. Nos sincères remerciements vont également à tous les enseignants, chercheurs et étudiants de la faculté biologie, leur engagement, leur motivation et leur confiance sont pour nous d'importantes sources de motivation qui nous permettent d'être optimiste et confiant dans l'avenir.*

# *Dédicaces*

*En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents.*

*A toute ma famille.*

*A tout mes amis.*

*A toute personne qui m'aime, que j'aime.*

*A toute personne qui aime le savoir.*

*Nabila*



# SOMMAIRE

Liste des abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux

*Introduction*.....1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales étudiées

<b>I. Céleri (<i>Apium graveolens</i> L.)</b> .....	3
I.1. Généralités .....	3
I.2. Noms vernaculaires .....	3
I.3. Description botanique.....	3
I.4. Classification botanique .....	4
I.5. Composition chimique de la feuille.....	4
I.6. Effets thérapeutiques et emplois .....	5
<b>II. Coriandre (<i>Coriandrum sativum</i> L.)</b> .....	6
II.1. Généralités.....	6
II.2. Noms vernaculaires .....	6
II.3. Description botanique.....	6
II.4. Classification botanique .....	7
II.5. Composition chimique la plante .....	7
II.6. Effets thérapeutiques et emplois .....	8
<b>III. Laurier (<i>Laurus nobilis</i> L.)</b> .....	9
III.1. Généralités .....	9
III.2. Noms vernaculaires .....	9
III.3. Description botanique .....	9
III.4. Classification .....	10
III.5. Composition chimique.....	10
III.6. Effets thérapeutiques et emplois.....	11
<b>IV. Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i> L.)</b> .....	12
IV.1. Généralités.....	12
IV.2. Noms vernaculaires.....	12
IV.3. Description botanique .....	12
IV.4. Classification botanique .....	13
IV.5. Composition chimique de la plante.....	13
IV.6. Effets thérapeutiques et emplois .....	14

<b>V. persil (<i>Petroselinum sativum</i> L.)</b> .....	15
V.1. Généralités .....	15
V.2. Noms vernaculaires.....	15
V.3. Description de la plante .....	15
V.4. Classification botanique .....	16
V.5. Composition chimique de la plante.....	16
V.6. Effets thérapeutiques et emplois.....	17

## **Chapitre II: Les polyphénols**

<b>I. Généralités sur les composés phénoliques</b> .....	18
I.1. Flavonoïdes.....	19
I.2. Tanins .....	21
<b>II. Interaction polyphénols-protéines</b> .....	23
II.1. Généralités.....	23
II.2. Principe de complexation .....	24
II.3. Différents types de liaisons .....	25
II.4. Paramètres influençant les interactions entre polyphénols et protéines.....	26
II.4.1. Paramètres intrinsèques.....	26
II.4.1.1. Les paramètres liés aux molécules de protéines .....	26
II.4.1.2. Les paramètres liés aux molécules de polyphénols .....	27
II.4.2. Paramètres extrinsèques .....	27
II.4.2.1. Effet du pH.....	27
II.4.2.2. Effet de la force ionique .....	27
II.4.2.3. Effet des carbohydrates .....	28
<b>III. Activité antimicrobienne des polyphénols</b> .....	28
III.1. Activité antimicrobienne des acides phénoliques.....	28
III.2. Activité antibactérienne des flavonoïdes.....	29
III.3. Activité antimicrobienne des tannins.....	29
III.4. Sites d'actions antimicrobiennes des polyphénols .....	30
III.4.1. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques.....	30
III.4.2. Inhibition du fonctionnement de la membrane cytoplasmique.....	31
III.4.3. Inhibition du métabolisme d'énergie.....	31

## *Etude expérimentale*

### **Matériel et méthodes**

I. Matériel végétal.....	33
II. Méthodes .....	33
<b>II.1. Préparation des échantillons</b> .....	33
II.1.1. Test d'humidité et séchage.....	34
II.1.2. Broyage et tamisage .....	34

<b>II.2. Extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>34</b>
<b>II.3. Dosage des polyphénols.....</b>	<b>35</b>
II.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux .....	35
II.3.2. Dosage des polyphénols polaires.....	36
II.3.3. Dosage des polyphénols apolaires.....	36
II.3.4. Dosage des flavonoïdes totaux.....	36
II.3.5. Dosage des tannins.....	37
<b>II.4. Activités biologiques.....</b>	<b>38</b>
II.4.1. Détermination de l'activité antioxydante .....	38
II.4.1.1. pouvoir antiradicalaire .....	38
II.4.1.2. Pouvoir réducteur.....	39
II.4.2. Interaction polyphénols protéines.....	39
II.4.2.1. Etude de l'effet de la concentration des extraits sur l'interaction.....	40
II.4.2.2. Etude de l'effet de la force ionique sur l'interaction .....	40
II.4.2.3. Effet du pH.....	40
II.4.3. Activité antibactérienne.....	41
<b>II.5. Etude statistique.....</b>	<b>42</b>

## *Résultats et discussions*

<b>I. Traitement des échantillons.....</b>	<b>43</b>
I.1. Test d'humidité et séchage .....	43
I.2. Extraction.....	46
<b>II. Polyphénols.....</b>	<b>49</b>
II.1. Polyphénols totaux .....	49
II.2. Polyphénols polaires et apolaires.....	51
II.3. Flavonoïdes .....	52
II.4. Tanins .....	54
<b>III. Etude de quelques activités biologiques.....</b>	<b>55</b>
III.1. Activité antioxydante.....	55
III.1.1. Le pouvoir antiradicalaire .....	56
III.1.1.1. Pouvoir antiradicalaire des extraits de plantes utilisées .....	57
III.1.1.2. Effet de la concentration d'extraits sur le pouvoir antiradicalaire .....	60
III.1.2. Pouvoir réducteur.....	61
III.1.3. Relation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur.....	67
III.2. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA .....	68
III.2.1. Effet de la concentration des extraits.....	68
III.2.2. Effet de la force ionique sur l'interaction polyphénols-BSA .....	70
III.2.3. Effet du pH sur l'interaction polyphénols – BSA.....	73
III.3. Activité antibactérienne .....	75

*Conclusion*..... 82

*Références bibliographiques* ..... 84

**Glossaire**

**Annexes**

## *Liste des abréviations*

**ABTS** : Acide 2,2'-azobis (Ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**BHA**: Butylhydroxyanisole.

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**BSA** : Bovin Serum Albumine.

**DPPH<sup>•</sup>**: radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**DO** : Densité Optique.

**EAG** : Equivalent en Acide Gallique.

**EAT** : Equivalent en Acide Tannique.

**EQ** : Equivalent en Quercétine.

**FRAP**: Ferric Reducing Ability of Plasma.

**GC-MS** : Gas Chromatography-Mass Spectrometry (chromatographie gazeuse spectroscopie de masse).

**HPLC** : High-Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide à Haute Performance).

**HSA**: Human Serum Albumin (**SAH**: Sérum Albumine Humaine).

**kDa** : Kilo Dalton.

**L** : Linné.

**MS**: Matière Sèche.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**ROS**: reactive oxygen species.

**SDS** : Sulfate Dodecyl de Sodium.

**TEA** : Triéthanolamine.

**UFC**: Unité Formant Colonie.



## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Photographies de <i>Apium graveolens</i> L. ....	4
<b>Figure 2</b> : structures chimiques de quelques composés d' <i>Apium graveolens</i> . ....	5
<b>Figure 3</b> : Photographies de <i>Coriandrum sativum</i> .....	7
<b>Figure 4</b> : Photographies de <i>Laurus nobilis</i> L .....	9
<b>Figure 5</b> : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de <i>Laurus nobilis</i> . ....	11
<b>Figure 6</b> : Photographies de <i>Mentha piperita</i> L .....	13
<b>Figure 7</b> : Photographies de <i>Petroselinum sativum</i> .....	16
<b>Figure 8</b> : Structure globale des flavonoïdes .....	19
<b>Figure 9</b> : Piégeage des ROS par les flavonoïdes .....	20
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques des tannins .....	22
<b>Figure 11</b> : Mécanismes monodenté et multidenté proposés par Prigent (2005) .....	25
<b>Figure 12</b> : Modèle de liaison polyphénols protéines .....	25
<b>Figure 13</b> : Effet des carbohydrates sur l'interaction tanins-protéines.....	28
<b>Figure 14</b> : Sites d'action antibactérienne des composés phénoliques .....	32
<b>Figure 15</b> : Teneur moyenne en eau et en matière sèche des différentes plantes.....	45
<b>Figure 16</b> : Taux d'extrait sec des différentes plantes.....	48
<b>Figure 17</b> : Composés phénoliques totaux, polaires et apolaires des extraits de plantes ... .....	49
<b>Figure 18</b> : Teneur en flavonoïdes des extraits de plantes .....	53
<b>Figure 19</b> : Quantité de tannins des extraits de plantes .....	54
<b>Figure 20</b> : mécanisme de réduction du radical DPPH par les polyphénols .....	57
<b>Figure 21</b> : Pouvoir antiradicalaire des extraits méthanoliques des plantes étudiées ....	60
<b>Figure 22</b> : corrélation entre les teneurs en composés phénoliques totaux et le pouvoir antiradicalaire .....	58
<b>Figure 23</b> : Pouvoir antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits de plantes .....	61
<b>Figure 24</b> : pouvoir réducteur des concentrations des extraits de plantes .....	63
<b>Figure 25</b> : corrélation entre le pouvoir réducteur et les teneurs en composés phénoliques totaux .....	64

<b>Figure 26</b> : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes .....	66
<b>Figure 27</b> : Structure stable de la résonance de la quercétine .....	67
<b>Figure 28</b> : corrélation entre le pouvoir réducteur et le pouvoir antiradicalaire .....	68
<b>Figure 29</b> : Variation de la DO en fonction de la concentration d'extrait polyphénolique pour les différentes plantes .....	69
<b>Figure 30</b> : Variations de la DO en fonction de la concentration de NaCl .....	72
<b>Figure 31</b> : Variation de la DO en fonction du pH.....	73
<b>Figure 32</b> : Représentation de l'activité antibactérienne des extraits de plantes contre : <i>E coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , et <i>P. aeruginosa</i> . .....	76
<b>Figure 33</b> : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes Contre la souche <i>Escherichia coli</i> .....	77
<b>Figure 34</b> : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes Contre la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .....	78
<b>Figure 35</b> : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes Contre la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	79
<b>Figure 36</b> : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes Contre la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	80

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b> : classification botanique de <i>Apium graveolens</i> L .....	4
<b>Tableau II</b> : classification botanique de <i>Coriandrum sativum</i> L .....	7
<b>Tableau III</b> : classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L .....	10
<b>Tableau IV</b> : Principales classes de composés secondaires identifiés dans les feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	10
<b>Tableau V</b> : classification botanique de <i>Mentha piperita</i> L.....	13
<b>Tableau VI</b> : Principales classes de composés phénoliques identifiés dans les feuilles de <i>Mentha piperita</i> L.....	14
<b>Tableau VII</b> : classification botanique de <i>Petroselinum sativum</i> L. ....	16
<b>Tableau VIII</b> : Noms scientifiques et communs et périodes de cueillette des plantes médicinales étudiées.....	33

## *Introduction*

Les médicaments actuels ont pour la majorité d'entre eux une origine naturelle, la recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et les laboratoires pharmaceutiques, toujours à la recherche de nouveaux composés actifs, se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation de molécules issues de matrices naturelles, et s'inspirent de leur structure moléculaire pour imaginer de nouveaux médicaments (Fiorucci, 2006). À l'origine, ces ressources étaient employées sous leur forme brute, puis au fil du temps, la préparation d'extraits et de concentrés ont permis d'en intensifier l'effet médicinal.

À partir du XIX<sup>ème</sup> siècle, les molécules responsables des effets thérapeutiques ont été isolées et ont servi de prototypes à l'élaboration de médicaments. Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (Gurib-Fakim, 2006).

Par conséquent, les quelques 400 à 600 000 le nombre d'espèces inventoriées que l'on trouve sur Terre, dont seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives, représentent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels. Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (Bérubé-gagnon, 2006), comme chacune d'entre elles donnant naissance à des voies biosynthétiques spécifiques.

À l'instar des autres régions du monde, l'Algérie recèle un patrimoine floristique très riche en plantes vertueuses mais peu connu, peu d'études approfondies y sont consacrées, cette richesse floristique constitue pour l'avenir un formidable creuset pour la découverte de nouveaux médicaments (Baba Aissa, 1991).

Pour cet intérêt grandissant des substances naturelles bioactives les polyphénols conservent une place de choix dans la découverte de ces nouvelles molécules thérapeutiques, et capturent l'intérêt de plusieurs recherches vue le nombre de leur propriétés biologiques indénombrables, l'activité antioxydante est l'une de ses

propriétés qui fait actuellement l'objet de nombreuses études, d'un intérêt certain, essentiellement dans la prophylaxie ou le traitement de nombreuses pathologies (Hennebelle, 2006), face à l'émergence grandissante à l'échelle mondiale du phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques, l'activité antibactérienne des polyphénols préoccupe une portée impressionnante parmi plusieurs. La découverte de nouveaux composés antimicrobiens est devenue un objectif primordial dans la lutte contre les infections causées par des souches bactériennes résistantes (Bérubé-gagnon, 2006). Une autre propriété de ces polyphénols, moins bien comprise, pourrait avoir tout autant d'importance par rapport à la santé : ils forment des complexes très stables avec les protéines. Elle doit avoir des conséquences directes sur leur biodisponibilité elle pourrait aussi être à la base du mécanisme intime de certaines des propriétés biologiques majeures qu'on leur découvre de plus en plus *in vitro* (expression génétique, inhibition enzymatique, etc...).

La présente étude se propose donc pour permettre une meilleure connaissance de quelques plantes médicinales de la région locale à savoir : *Apium graveolens* L., *Coriandrum sativum* L., *Laurus nobilis* L., *Mentha piperita* L., et *Petroselinum sativum* L. La sélection de ces plantes est fondée sur le savoir ethnobotanique dont la précision est dépendante de la richesse du taxon en caractères reconnus par la population locale.

Le présent travail est axé sur deux parties, dont la première est consacrée à l'étude bibliographique, relative aux plantes étudiées, aux composés phénoliques et leurs propriétés biologiques. La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, qui porte sur la préparation des échantillons de plantes, leur étude phytochimique en terme de polyphénols. Suivi de l'étude de quelques activités biologiques de ces extraits à savoir : l'activité antioxydante, l'étude de l'interaction polyphénols-protéine en variant certains paramètres réactionnels, enfin l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits.

## I. Céleri (*Apium graveolens* L.)

### I. 1. Généralités

*Apium graveolens* L. appelée communément le céleri, il fait partie de la famille des ombellifères, connu depuis la haute antiquité est estimé depuis l'Égypte et la Grèce antique, cultivé pendant les 3000 dernières années. Son usage comme plante médicinale est déjà connu depuis des siècles en médecine traditionnelle chinoise (Dauksas *et al.*, 2002 ; Falzari et Menary, 2005 ; Kitajima *et al.*, 2003 ). Il est actuellement répandue dans tout l'Europe, l'Asie occidentale à l'est de l'inde, du nord au sud d'Afrique tout comme en Amérique, Considérablement pour plusieurs utilisations thérapeutiques. Par contre, les différentes variétés sont connues qu'en culture (Bahar *et al.*, 2002 ; Kitajima *et al.*, 2003 ; Sultana *et al.*, 2005 ; Wchit et Anton, 2003).

### I. 2. Noms vernaculaires

Français : ache des marais, persil des marais, ache odorante.

Allemand : sellerie, eppich.

Anglais : celery, celeriac (Wchit et Anton, 2003).

Arabe : كرفس (krafess) (Baba aissa, 1991).

### I. 3. Description botanique

L'espèce *A. graveolens* L., est une ombellifère cultivée comme légume, la plante bisannuelle forme une rosette de feuilles basales la première année et ne fleurit que la seconde année ; elle peut atteindre jusqu'à 1m de hauteur (Wchit et Anton, 2003).

Les feuilles sont de couleur vert foncé et brillantes ; elles sont longuement pétiolées, pennatiséquées, à limbe triangulaire, crénelé et composé de trois segments ; les feuilles supérieures ont une gaine courte, bordée de blanc et sont soit découpées en trois segments, soit à limbe entier (Wchit et Anton, 2003) (**figure1**).



**Figure 1:** Photographies de *A. graveolens* L. (A : plante entière, B : fleurs, C : feuille) (Anonyme 1, 2008).

#### I. 4. Classification botanique

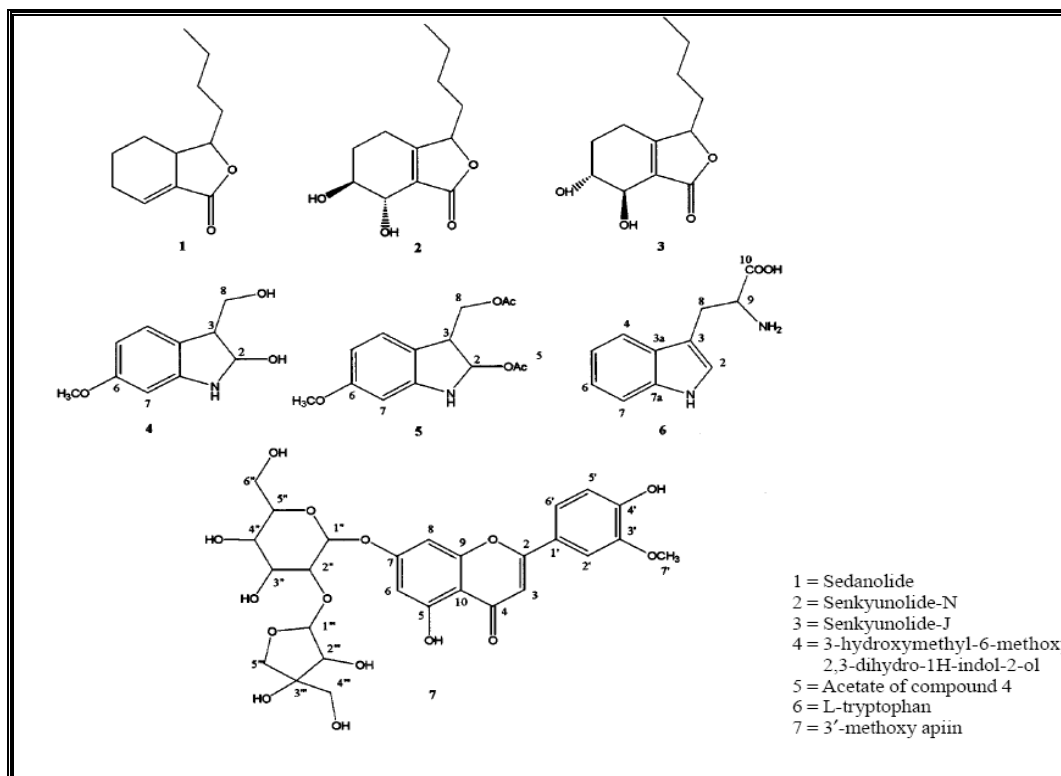
Selon Guignard (2001), la classification de *A. graveolens* L. est donnée dans le tableau suivant :

**Tableau I :** classification botanique de *A. graveolens* L. (Guignard, 2001).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Apium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Apium graveolens</i> L.

#### I. 5. Composition chimique de la feuille

Les premières expérimentations eurent isolé principalement les flavonoïdes : l'apine (apigénine-7-O-apiosylglucoside), accompagné de lutéoline 7-O-apiosylglucoside, de lutéoline-7-O-glucoside, d'apigénine-7-O-glucoside et d'un glucoside du choysériol. D'autres expérimentations plus récentes révélant des dérivés furanocoumariques tels que le bergaptène, le xanthoxine, l'isopimpinelline, le psoralène : leurs teneurs sont aussi fortement augmentées lors d'atteintes fongiques ou de traitement par les fongicides (Figure 2) (Downie *et al.*, 2000 ; Momin et Nair., 2002 ; Sultana *et al.*, 2005). Des quantités de dérivés d'acide hydroxycoumamique (comme l'Acide chlorogénique) ont été trouvés. Cette plante dispose aussi des Stéroïdes tels que  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol, campestérol (Sultana *et al.*, 2005).



**Figure 2 :** structures chimiques de quelques composés phénoliques d'*Apium graveolens* L. (Momin et Nair, 2002).

## I. 6. Effets thérapeutiques et emplois

En raison de sa saveur aromatique, le céleri est utilisé pour ses propriétés stimulantes des sécrétions salivaires et gastriques, comme cholagogue et comme stimulant du péristaltisme intestinal, des propriétés diurétiques autrefois soupçonnées ont été confirmées que nouvellement (Baba aissa, 1991 ; Bahar *et al.*, 2002).

Il est apéritif, reminéralisant, tonique draineur hépatique, en outre il est recommandé dans les régimes alimentaires, contre l'obésité et l'asthénie, utilisé en cas de calculs rénaux sous forme de décoction (Bahar *et al.*, 2002 ; Vina et Chaves, 2007).

On signale d'autre part que des cas de néphrites chroniques ont pu être traités avec succès. En usage externe, le céleri trouve son emploi dans le traitement des engelures et des plaies par son action cicatrisante (Baba aissa, 1991).

De fortes doses d'huiles essentielles isolées des fruits exercent des propriétés sédatives ; elle peut être employée en massage contre l'arthrite, la goutte ou les rhumatismes. (Baba aissa, 1991 ; Boudet, 2007 ; Falzari et Menary, 2005 ; Vitova *et al.*, 2002 ; Wong *et al.*, 2006).

Comme épice, l'usage de céleri dans la cuisine sous forme de plante potagère ou de condiment, est très fort ancien. C'est à partir de XIX<sup>ème</sup> siècle que son utilisation a pris de l'importance, les feuilles aromatisent les salades, les soupes, les légumes blanchis ou non (Baba aissa, 1991 ; Falzari et Menary, 2005).

## II. Coriandre (*Coriandrum sativum* L.)

### II. 1. Généralités

Cette épice connue des Grecs et Romains et objet de culte, initialement originaire de la région Méditerranéenne Orientale et Proche-Orient (Varier, 1994 ; Wichtl et Anton, 2003). Son usage en chine remonte à environ 2000 ans (Reis *et al*, 2004 ; Diederichsen, 1996). Plante cultivée abondamment en Algérie pour son utilisation culinaire et autre (Baba aissa, 1991).

### II. 2. Noms vernaculaires

Français : persil arabe, persil chinois, persil mexicain.

Allemand : koriander, Garten-koriander, koliander, schwinde.

Anglais : coriander, cilantro, Chinese parsley (Wichtl et Anton, 2003).

Arabe : قسبر (qasbar) ou كسبر (kesbar) (Baba aissa, 1991).

### II. 3. Description botanique

*C. sativum* L, est une plante herbacée, vert clair. Cette plante est une annuelle, qui mesure jusqu'à 60cm de hauteur, reconnaissable à ses tiges dressées, cannelées ramifiées portant des feuilles vert clair sont glabres, alternes et tombent assez rapidement et palmées (Djerroumi et nacef, 2004 ; Varier, 1994). Elle possède des racines pivotantes et fuselées (Anton et lobstein, 2005 ; Coskuner et Karababa, 2007).

Les feuilles basales sont longuement pétiolées, pennatiséquées, composées de segments ovales incisés et dentés (rappelant un peu les feuilles du persil plat, d'où ses appellations vernaculaires) (Egualé *et al.*, 2007) ; les feuilles supérieures sont sessiles, finement découpées en lanière et pourvues d'une longue gaine, large et membraneuse (Anton et lobstein, 2005 ; Coskuner et Karababa, 2007 ; Harding, 2005).





**Figure 3:** Photographies de *Coriandrum sativum* L. (A : feuilles, B: fleurs, C : fruits) (Anonyme 2, 2008).

## II. 4. Classification botanique

Selon Peter (2004), la classification de *C. sativum* L. est donnée dans le tableau suivant :

**Tableau II :** classification botanique de *C. sativum* L. (Peter, 2004).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Polypetalae
<b>Ordre</b>	Umbellales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Coriandrum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Coriandrum sativum</i> L.

## II. 5. Composition chimique de la plante

Le criblage phytochimique des feuilles de *C. sativum* L. a indiqué la présence des composés chimiques tels que les composés phénoliques mais aussi d'autres comme les acides gras, les minéraux, les vitamines K et E, les feuilles sont riches en flavonoïdes tels que le 3-O-glucosides de quercétol et de kaempférol, comme le quercétol 3-O-glucoronide, la rutine et l'iso quercitrine Alkylphtalides (Al-Mamary, 2002 ; Diederichsen, 1996 ; Kaya *et al.*, 2000 ; Ramadan et Morsel, 2008).

L'analyse des extraits méthanoliques en utilisant toute la partie aérienne de la plante (feuilles et tige) a révélée l'existence des flavonoïdes comme la quercétine 3-glucoronide, de camphre (Argonosa, *et al.*, 1998 ; Kitajima *et al.*, 2008). Mais aussi de

l'acétate géranylique, le géraniol et les coumarins, des acides gras ont été détectés, l'acide gras principal étant l'acide petrosélinique (65.7% de tous les esters méthyliques d'acide gras), suivi de l'acide linoléique, des isocoumarins ont été également récemment isolés (Eskin *et al.*, 1978 ; Proestos *et al.*, 2005 ; Taniguchi *et al.*, 1996).

### **I. 6. Effets thérapeutiques et emplois**

La coriandre, comme toutes les ombelliféracées, possède des propriétés antispasmodiques et stimule la sécrétion du suc gastrique (Egualé *et al.*, 2007).

En Inde, cette plante est traditionnellement employée sous forme d'infusion en cas de douleurs dyspepsique, en raison de leurs propriétés carminatives, en cas de toux, de fièvre et de dysenterie, leur effet sédatif sur le système nerveux n'est pas négligeable non plus, l'huile essentielle diluée sert en frictions et l'infusion calme les douleurs oculaires (Anton et Lobstein, 2005 ; Melo *et al.*, 2003).

En médecine traditionnelle cette substance active est vermifuge et entre dans la composition de pommades contre les rhumatismes et les douleurs articulaires (Wichtl et Anton, 2003). Les massages d'huile essentielle soulagent les souffrances musculaires et les indigestions douloureuses (Egualé *et al.*, 2007 ; Higashimoto *et al.*, 1993).

Utilisée particulièrement dans le cas de diarrhée, d'intoxication intestinale, également une action bactéricide reconnue. Cette substance active est également stomachique, et spasmolytique (Said *et al.*, 1996), en raison de son huile essentielle, qui est de plus bactéricide et fongicide, elle est utilisée en cas de gastrite subacide, et de dyspepsie d'origines diverses (douleurs abdominales, flatulence, ballonnements) (Gray et Flatt, 1999 ; Hashim *et al.*, 2005 ).

Particulièrement apprécié comme épice en Inde, en Afrique de nord, et même en Europe du Nord, les fruits sont ajoutés aux plats avant de servir, soit entiers soit broyés, les fruits sont utilisés pour aromatiser sauces, les marinades, et d'autres plats. (Aburjai et Natsheh, 2003 ; Dogan *et al.*, 1984 ; Kaya *et al.*, 2000).

### III. Laurier (*Laurus nobilis* L.)

#### III. 1. Généralités

*Laurus nobilis* L. appelé communément laurier, appartenant à la famille des lauracées, originaire du sud de l'Europe et d'Afrique du nord (Barla *et al.*, 2007 ; Sayyah *et al.*, 2002 ; Zargari, 1990), bien que l'espèce se rencontre, aujourd'hui dans l'ensemble des pays méditerranéens (Anton et lobstein, 2005 ; Fang *et al.*, 2005 ; Garg *et al.*, 1992).

#### III. 2. Noms vernaculaires

En français : laurier commun, laurier sauce, laurier d'apollon laurier franc, laurier noble (Barla *et al.*, 2007).

Almand : lorbeer, lorbeerbaum, Gewurzlorbeer.

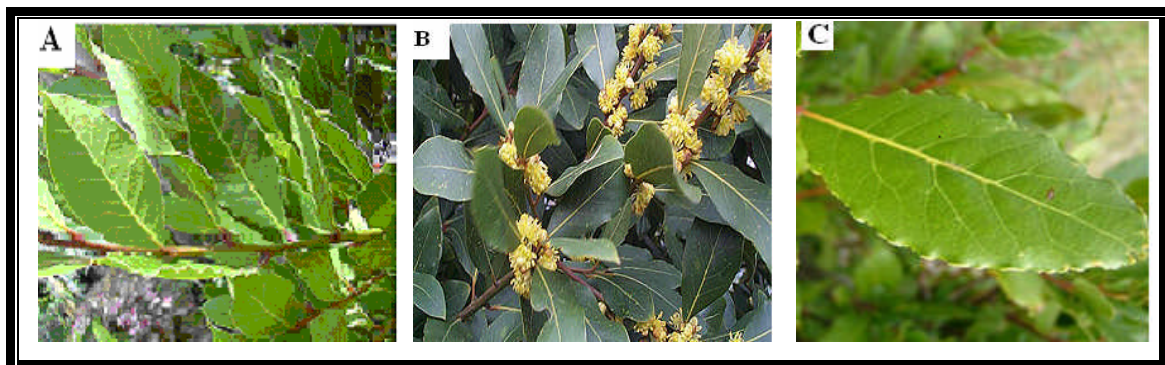
Anglais : bay, sweet bay, bay laurel, ture laurel (Anton et lobstein, 2005).

Arabe : (رند) Rand (Baba aissa, 1991).

#### III. 3. Description botanique

C'est un Arbre pouvant atteindre 15m de hauteur mais généralement taillé en arbrisseau pour en faciliter la récolte, l'écorce lisse et noire et au feuillage persistant (Baba aissa, 1991).

Les feuilles sont alternes, allongées, d'environ 10cm de long sur 3 à 5cm de large ; elles se terminent en pointe des deux cotés et sont courtement pétiolées ; leur limbe est coriace, glabre, entier, souvent légèrement ondulé et épaissi sur les bords recourbés vers l'intérieur, d'un vert foncé et luisant à leur partie extérieure (Anton et lobstein, 2005).



**Figure 4** : Photographies de *L. nobilis* L. (A : plante, B : fleurs, C : feuilles)  
(Anonyme 3, 2008).

### III. 4. Classification

Selon Guignard (2001), l'espèce *L. nobilis* L. est classée comme suit :

**Tableau III** : classification botanique de *L. nobilis* L. (Guignard, 2001).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes.
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes.
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Laurales
<b>Famille</b>	Lauracées
<b>Genre</b>	<i>Laurus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Laurus nobilis</i> L.

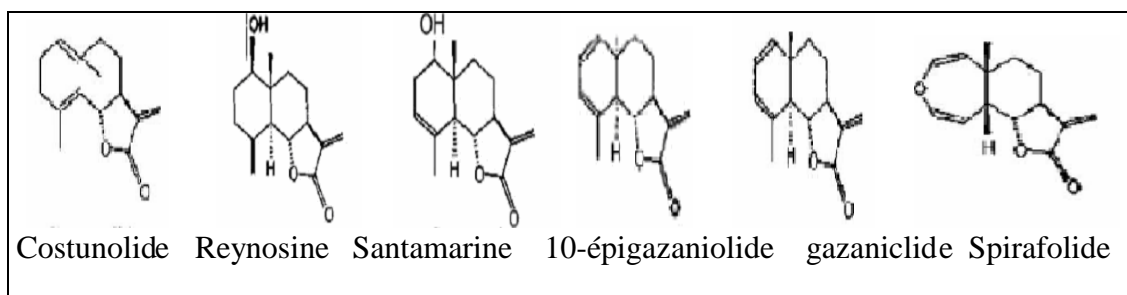
### III. 5. Composition chimique de la plante

Plusieurs extractions dans différents solvants ont été utilisées, pour dévoiler la composition chimique de cette plante, l'analyse des extraits a montré que cette espèce contient plusieurs constituants, son huile essentielle est surtout riche en 1.8 cinéole ; les constituants sont très variables, à la fois qualitativement et quantitativement (Figure 5), selon les provenances, et la période du récolte. On trouve des lactones Sesquiterpènes qui sont responsables des propriétés pharmacologiques différentes (Fang *et al.*, 2005 ; Fiorini *et al.*, 1997 ; Lin *et al.*, 1990 ; Putievsky *et al.*, 1994 ; Simic *et al.*, 2003).

**Tableau IV** : Principales classes de composés secondaires identifiés dans les feuilles de *L. nobilis* L.

Classe	Composé	Référence
<b>Acides phénoliques</b>	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p- coumarique p-coumarique, fénulique, sinapique, gentsuque et vanillique	(Barla <i>et al.</i> , 2007)
<b>Flavonoïdes</b>	Principalement la rutine, l'iso quercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et 3- arabinoside. Le kaempférol-3-rhamnoside, 2-p-coumaroyles	(Fiorini, <i>et al.</i> , 1998 ; Kang <i>et al.</i> , 2002).
<b>Hétérosides de lignanes</b>	Méthoxyisolaricirénol -9-0-xylosides, -0- sécoisolariciresinol-9-0-xylosides.	(Uchiyama <i>et al.</i> , 2002).

<b>Alcaloïdes</b>	Actinodaphonine, isodomecicene, launobine, N- méthy lactinodaphonine , nandigérine , néolitsine et réticuline	(Pech et Bruneton, 1982).
<b>Lactones sesquiterpéniques</b>	La déhydrocostuslactone, artémoneine, érémanthine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine.	(Matsuda <i>et al.</i> , 2000 ; Yoshikawa <i>et al.</i> , 2000),



**Figure 5 :** Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Laurus nobilis* (Fang *et al.*, 2005).

### III. 6. Effets thérapeutiques et emplois

La saveur aromatique des feuilles est à l'origine des propriétés apéritives et digestives de laurier, en cas de perte d'appétit et de troubles digestifs, traditionnellement les feuilles de laurier sont employées comme carminatif, expectorant, diurétique, antispasmodique, emménagogue et sudorifique. Utilisé également dans le cas de flatulence, et de bronchites chroniques (Aqili khorasani, 1992 ; Duke, 1997 ; Elmastaşa *et al.*, 2006 ; Zargari, 1990).

Le laurier a une action antiseptique, antivirale et bactériostatique, grâce à ses propriétés antibactériennes, antifongiques, et antioxydantes, ainsi, il est un remède efficace pour les plaies, les aphtes et les abcès dentaires (Eugenio vago, 1976 ; Qamar et Chaudhary, 1991 ; Seyed *et al.*, 2001).

D'autres vertus ont été démontrées pour cette espèce ; dans le cas des angines, d'infections bucco-pharyngées, affaiblissement de la mémoire, et dans le cas d'atonie musculaire. (Duke, 1997 ; Elmastaşa *et al.*, 2006 ; Sen *et al.*, 1992 ; Skerget *et al.*, 2005 ; Wada *et al.*, 1997).

En cuisine, l'usage de laurier pourrait avoir une place plus importante pour le plus grand profit du consommateur (Valnet, 1992). Les feuilles de laurier sont particulièrement appréciées dans le bassin méditerranéen (Barla *et al.*, 2007 ; Elmastaşa *et al.*, 2006).

## IV. Menthe poivrée (*Mentha piperita* L.)

### IV. 1. Généralités

L'usage des menthes remonte à l'antiquité. En 2000 avant .J-C, des cultures notamment de menthe verte, étaient déjà pratiquées en chine et en Egypte (Aflatuni *et al.*, 2005). Les espèces et les variétés de Menthe sauvages sont extrêmement nombreuses (Dorman *et al.*, 2003 ; Sweetie *et al.*, 2007 ; Zheng et Wang, 2001), s'hybrident facilement d'où la complication de leur classification. Environ 20 espèces de *Mentha* sont répertoriées et donnent naissance à des hybrides qui se différencient selon leur nombre de chromosomes (Paranjpe, 2001). La menthe poivrée est un hybride introduit la première fois en Angleterre à la fin du XVII<sup>e</sup> siècle et au commencement du XVIII<sup>e</sup> siècle d'où il se répandit très vite dans toute l'Europe, et en Afrique du Nord. Cet hybride issu du croisement entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica* L.) et la menthe verte (*Mentha spicata* L.) (Wichtl et Anton, 2003).

### IV. 2. Noms vernaculaires

Français : menthe anglaise (Aflatuni *et al.*, 2005).

Allemand : pfeffermize, englische minze, endelminze, teeminze.

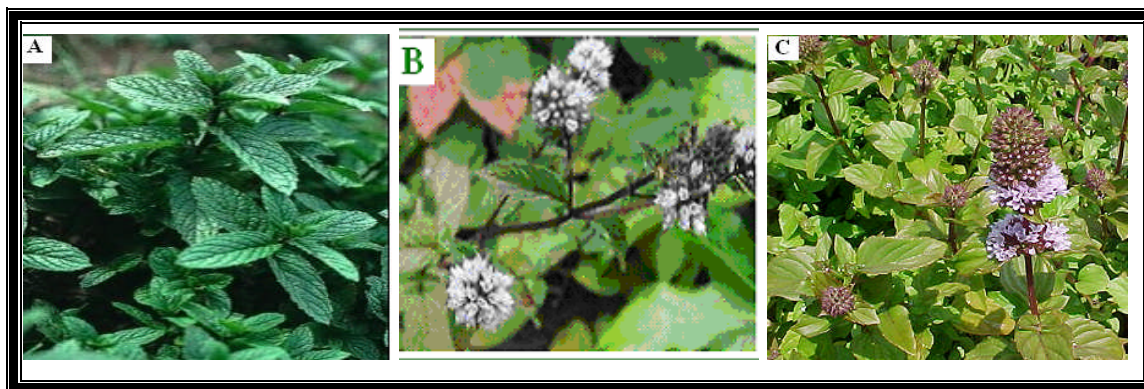
Anglais : peppermint (Wichtl et Anton, 2003).

Arabe : نعناع حار nânâ har (Baba aissa, 1991).

### IV. 3. Description botanique

C'est une plante vivace peut atteindre environ 60cm de hauteur, elle possède une tige rameuse pouvant atteindre 90cm de hauteur (Wichtl et Anton, 2003).

Les feuilles sont opposées, écartées presque sur un plan horizontal, toujours pétiolées, leur limbe est allongé à ovale de 3 à 9 cm de long, poilu ou non, elles dégagent par frottement une forte odeur aromatique très agréable (Aflatuni *et al.*, 2005).



**Figure 6** : Photographies de *M. piperita* L. (A : plante, B: fleurs, C : feuilles) (Anonyme 4, 2008).

#### IV. 4. Classification botanique

Selon Guignard (2001), l'espèce *M. piperita* L. est classée comme suit :

**Tableau V** : classification botanique de *M. piperita* L. (Guignard, 2001).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes.
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes.
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Astéridées
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées, labiées
<b>Genre</b>	<i>Mentha</i>
<b>Espèce</b>	<i>Mentha piperita</i> L

#### IV. 5. Composition chimique de la plante

*M. piperita* L. détient une source intéressante de composés phénoliques à intérêt pharmaceutique et thérapeutique, essentiellement des flavonoïdes jusqu'à 10% (hétérosides d'apigénine, diosmétine, lutéoline, ériodictyol, notamment l'eriocitrine et lutéoline-7-rutinoside) (Tableau VI), renferme également des flavones polyméthoxylées comme le xanthomicrol, les gardénines D et B et le 5-O-désméthylnobilétine (Anton et lobdtein, 2005). Des acides phénoliques, mais aussi des polyphénols polymérisés, des carotènes, des vitamines particulièrement les tocophérols (Anton et lobstein., 2005 ; Vidal *et al.*, 2007).

**Tableau VI :** Principales classes de composés phénoliques identifiés dans les feuilles de *M. piperita* L.

Classe	Composé	Références
<b>Flavonols et flavonol glycosides</b>	Quercetine, kaempferol, rhamnetine isorhamnetine, quercitrine, isoquercitrine, rutine	(Karousou <i>et al.</i> , 2007 ; Lin <i>et al.</i> , 1999).
<b>Flavones</b>	Luteol, apigeni, 6-OH-apigenine ,OH-flavone eupator,8-OH-7-meO-flavone	(Moldao-Martins <i>et al.</i> , 2004).
<b>Flavanones et flavanols</b>	Naringenine, taxifoline, hesperetine.	(Szöllôsi <i>et al.</i> , 2002).
<b>Isoflavones</b>	genisteine	(Valant-Vetschera <i>et al.</i> , 2003).
<b>Acides Phenylcarbonique</b>	Acide insafféique, acide Ferulique	(Moreno <i>et al.</i> , 2002 ; Sweetie <i>et al.</i> , 2007).
<b>Acides phénoliques</b>	Acide rosmarinique, Acide caféique	(Sweetie <i>et al.</i> , 2007).

#### IV. 6. Effets thérapeutiques et emplois

*M. piperita* L. est l'une des plantes aromatiques les plus populaire, qui a une histoire centenaire d'utilisation, elle détient plusieurs vertus thérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire très appréciée (Gulluce *et al.*, 2007 ; Paul *et al.*, 2006). Elle est utilisée depuis fort longtemps pour ses propriétés diurétiques et leur capacité à faire tomber la fièvre, les font recommander contre l'ensemble des maladies d'origine infectieuses (Capecka *et al.*, 2005), d'autant plus que ces vertus se doublent incontestable efficacité bactéricide et antiseptique. Habituellement la menthe poivrée est aussi employée en cas de nausées (Djerroum et nacef, 2004 ; Eugenio et vaga, 1976 ; Gopalan *et al.*, 1999 ; Paul *et al.*, 2006 ; Syed *et al.*, 2001).

La saveur aromatique de la menthe poivrée provoque une stimulation réflexe des sécrétions salivaires, gastriques et biliaires, d'où ses propriétés apéritives et digestives (Duarte *et al.*, 2005 ; Paul *et al.*, 2006).

La consommation de feuilles fraîches chez l'animal incite une augmentation de l'activité lipasique et amylasique de la muqueuse intestinale et un accroissement de l'activité lipasique du pancréas (Daferera *et al.*, 2003 ; Economou, *et al.*, 1991 ; Iscan



*et al.*, 2002). En raison de sa teneur en menthol, la menthe poivrée soulage les douleurs migraineuses (Duarte *et al.*, 2005 ; Samarth et Kumar, 2003).

Cette plante de saveur agréable est très utilisée à travers le monde entier. La menthe est d'un goût universel qui permet de masquer ou d'accompagner de très nombreux produits chimiques dentaires et alimentaires (Dorman *et al.*, 2003 ; Sweetie *et al.*, 2007 ; Zheng et Wang, 2001).

## **V. Persil (*Petroselinum sativum* L.)**

### **V. 1. Généralités**

Plante aromatique originaire d'Europe méridionale. Au fil des siècles, on a attribué au persil des pouvoirs précieux ou de grandes propriétés médicinales (Ivanc *et al.*, 2004). Dans les régions méditerranéennes, le persil était connu depuis environ 2000 ans, Plante spontanée dans l'Asie du sud-ouest et l'Afrique du Nord, largement cultivée dans toutes les parties du monde (Simon et Quinn, 1988).

### **V. 2. Noms vernaculaires**

Français : Persil (Peter, 2004).

Allemand : Petersilie, Petersil; Peterwurz (Peter, 2004).

Anglais : Parsley.

Arabe : معدنوس maadnousse (Baba aissa, 1991).

### **V. 3. Description de la plante**

Plante bisannuelle, vigoureuse et érigée sur 03 à 12 cm de haut et dont la racine pivotante est fuselée (Petropoulos *et al.*, 2004).

Les feuilles basales et inférieures sont pétiolés verts foncés et luisants, à pourtour triangulaire ; leur limbe est pénnatiséqué formé de 2 à 3 segments ovales, incisés et dentés. Celui des feuilles supérieures est formé de segments entiers et lancéolés parfois très finement découpés. Selon les cultivars, les feuilles sont plates ou plus ou moins frisées (Anton et lobdtein, 2005).



**Figure 7** : Photographies de *P. sativum* L. (A : plante, B : fleurs, C : feuilles) (Anonyme 5, 2008).

#### V. 4. Classification botanique

La classification de *P. sativum* L. donnée par Peter (2004).

**Tableau VII** : classification botanique de *P. sativum* L. (Peter, 2004).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes.
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes.
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Polypetalae
<b>Ordre</b>	Umbellales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Petroselinum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Petroselinum sativum</i> L

#### V. 5. Composition chimique de la plante

Le persil est parmi les plantes les plus riches en composés antioxydants. Les principaux de ces composés sont l'apigénine, la lutéine et le bêta-carotène (Akpınar *et al.*, 2006 ; Gazzani, 1994). L'apigénine est le principal flavonoïde présent dans le persil. Il est surtout reconnu pour ses effets antioxydants *in vitro*, mais aussi pour ses effets potentiellement antimutagène *in vitro* et anticancérigène chez l'animal. En plus de son pouvoir antioxydant, l'apigénine pourrait contribuer à la régulation du glucose sanguin (Davey *et al.*, 1996 ; Fejes *et al.*, 2000 ; Fiad et El Hamidi, 1993 ; Spraul *et al.*, 1991).

Le persil déshydraté est une bonne source de : thiamine, myristicine, apiole, de coumarines tels que bergaptène, imperatorine, riche en composés volatiles tels que,

des phthalides, des furanocoumarins, et des sesquiterpènes (Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006 ; Wills *et al.*, 1986 ; Simon et Quinn, 1988).

L'analyse phytochimique a révélée la présence d'autres constituants : riboflavine, minéraux organiques, des vitamines tel que : la Vitamine K et Vitamine C (Athar *et al.*, 1999 ; Ibrahim *et al.*, 2006).

### **V. 5. Effets thérapeutiques et emplois**

Les feuilles sont employées en médecine populaire comme résolutive en application externe (cataplasme contre les engorgements laiteux) (Kreydiyyeh et Usta, 2002 ; Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006). Très fréquemment, le persil est utilisé en cas d'infections urinaires et en prévention de calculs rénaux, son administration se fait soit sous forme d'infusion préparée à partir des parties aériennes sèches ou de fragments de racines séchées (Anderson *et al.*, 1996 ; Soysal *et al.*, 2006).

Le poids de l'utérus réduit après ovariectomie (sourie) a pu être rétabli après un traitement par voie orale à base d'extrait, il semble que le constituant responsable de l'activité soit l'apigénine, (Kavak *et al.*, 2006 ; Soysal, 2004).

Des expérimentations animales montrent également que la myristicine est capable de ralentir de façon importante la formation de tumeurs induites par le benzpyrène, cette diminution est vraisemblablement due à la formation, tant au niveau hépatique qu'au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle (Kreydiyyeh et Usta, 2002 ; Robbers et Tyler, 1999).

Des expérimentations animales ont mis en évidence un effet diurétique et spasmolytique des flavonoïdes de persil (Darias *et al.*, 2001 ; Yanardag *et al.*, 2003). Comme épice, le persil est employé dans toutes les zones tempérées du monde, c'est l'herbe condimentaire la plus répandue (Díaz-Maroto *et al.*, 2003 ; Lopez *et al.*, 1999).

## I. Généralités sur les composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, sont fort répandus dans le règne végétal, rencontrés en somme, dans chaque plante, dans les racines, les feuilles, les fruits et les écorces. La part de ces composés représente 2 à 3% de la masse de la matière organique des plantes et, dans certains cas jusqu'à 10% et même davantage (Rakipov, 1987). Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (Bruneton, 1993 ; Richter, 1993). Par conséquent plusieurs molécules ont été identifiées qui sont principalement ; les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle, 2006 ; Monpon *et al.*, 1996).

Plusieurs classifications ont été optées pour distinguer entre les différentes classes de polyphénols, en se basant sur la structure moléculaire et le nombre d'atomes de carbone (Balasundram *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 2004 ; Hashim *et al.*, 2005 ; Hennebelle, 2006 ; Monpon, 1996 ; Morel *et al.*, 1994 ; Skerget *et al.*, 2005).

Les polyphénols sont des métabolites dits « secondaires », ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction (Hauss, 2006 ; Surveswaran *et al.*, 2007).

Ils participent aux mécanismes de défense de la plante (protection contre les attaques fongiques, contre le rayonnement UV, etc...). Ce sont aussi les pigments de la plupart des fleurs et des fruits rouges ou bleus et de ce fait ils contribuent à l'attraction des insectes pollinisateurs et à la dissémination des graines (Hauss, 2006).

Cette dernière décennie a vu une augmentation des études biologiques de ces composés. Cet intérêt est lié aux résultats de diverses études épidémiologiques ayant établi une relation entre la consommation des aliments contenant des polyphénols, et la moindre incidence de certaines pathologies comme les affections cardiovasculaires, inflammatoires, et les cancers (Hauss, 2006).

Les polyphénols sont des antioxydants naturels, mais aussi ayant d'autres propriétés biologiques : antibactériennes, antifongiques, antivirales, ..., qui ont été démontrées *in vitro* (Hauss, 2006 ; Wong *et al.*, 2006).

### I. 1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Cette classe représente la plus grande et la plus diverse famille des polyphénols. Leur fonction principale est la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, et des caroténoïdes), où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Bennick, 2002).

Possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (Figure 8), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C<sub>6</sub> (cycles A et B) reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (cycle C) (Bruneton, 1999 ; Narayana *et al.*, 2001 ; Sellappan *et al.*, 2002 ; Naithani *et al.*, 2006).

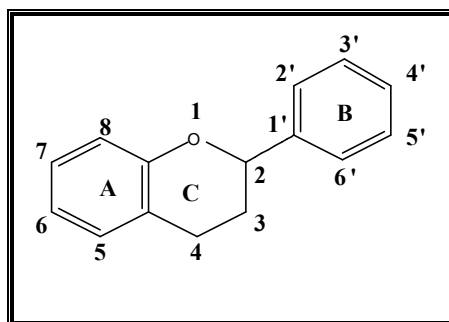


Figure 8 : Structure globale des flavonoïdes (Richter, 1993).

Ce n'est que depuis quelques années que certaines propriétés pharmacologiques ont pu être mises en évidence et que leur étude a pris un nouvel essor (Proestos *et al.*, 2006).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-cancéreuses... Ces activités sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes (Marfak, 2003 ; Rijke *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des radicaux libres. Ils 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 (empêchant ainsi la réaction de Fenton) et par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production d'espèces réactives d'oxygène (Ghedira.2005 ; Hinneburg *et al.*, 2006 ; Zhao *et al.*, 2005).

- **Capture directe de radicaux libres**

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. C'est pourquoi les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont souvent associées à leur potentiel antiradicalaire (Fiorucci, 2006 ; Miliauskas *et al.*, 2004 ; Samarth *et al.*, 2007).

De nombreuses études soutiennent le fait que l'activité antioxydante des flavonoïdes est essentiellement liée à leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxide, hydroxyle, peroxy, et alkoxy (Fiorucci, 2006 ; Lapornik *et al.*, 2005).

Le radical flavonoxy peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Figure 9).

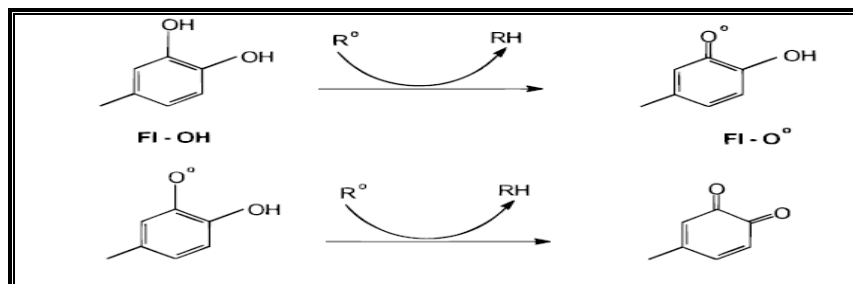
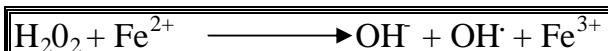


Figure 9 : Piégeage des ROS par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

- **Interaction avec les cations métalliques**

Les ions métalliques présents dans notre organisme, comme le fer ou le cuivre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux hydroxyles très réactifs à partir de l'espèce moins réactive H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> via la réaction de Fenton.



Les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à former des complexes stables avec les ions métalliques et sont alors capables d'inhiber la réaction de Fenton et ainsi empêcher la production d'espèces réactives de l'oxygène (Fiorucci, 2006 ; Ghedira, 2005).

- **Inhibition des enzymes productrices de radicaux libres**

Les flavonoïdes sont également capables d'inhiber de très nombreuses enzymes directement impliquées dans le stress oxydant et pouvant être inhibées par les flavonoïdes sont la glutathione S-tranférase, les lipooxygénases, les cyclooxygénases, la xanthine oxydase, et les nitrique oxyde synthases. C'est le cas par exemple de la quercétine et la myricétine (Marfak, 2003 ; Fiorucci, 2006).

Par ailleurs, l'utilisation de plantes renfermant des flavonoïdes, est en progression constante en raison de l'intérêt porté aux plantes alimentaires contenant cette classe de composés d'origine naturelle ayant des propriétés justifiant leur emploi dans la prophylaxie des maladies cardio-vasculaires et des cancers (Ghedira, 2005).

## **I. 2. Tanins**

Les tanins sont des polyphénols qui ont la propriété commune d'être astringents en précipitant certaines protéines de la salive. La communauté scientifique leur confère également des propriétés médicinales après leur ingestion par l'homme. Toutes ces propriétés dépendraient de leur structure et surtout de leur degré de polymérisation. D'importants travaux ont mis en évidence certaines propriétés biologiques et pharmaceutiques des tanins : antivirales, antitumorales et autres (Okuda, 2005 ; Perret, 2001 ; Simon, 2003).

- **Les tanins hydrolysables :**

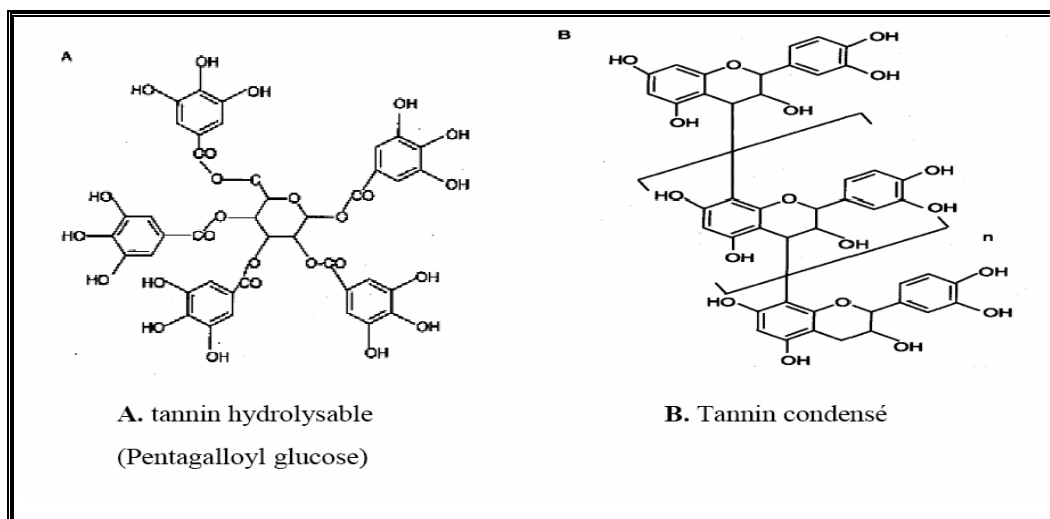
Ce sont des esters de glucose, c'est-à-dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides galliques pour le groupe des gallotannins, l'acide hexahydroxydiphénique (ou éllagique) pour le groupe éllagitanins (Figure10) (Bennick, 2002 ; Peronny, 2005).

- **Les tanins condensés :**

Les tannins condensés forment le groupe le plus important, de structures plus complexe, ils sont de loin les tannins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, de dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes (Peronny, 2005 ; Perret, 2001).

Ce sont des polymères de flavan-3-ols (appelés aussi catéchines) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Figure10). Les tannins

condensés sont des polymères de poids moléculaire élevé, (6000 à 12000 Daltons) (Peronny, 2005).



**Figure 10** : Structures chimiques des tanins (Bennick, 2002).

Les chaînes de polymères comptent de deux à vingt unités, et il existe des hydroxylations possibles en différents endroits de chaque monomère. Cette diversité structurale explique les variations d'activités biologiques (Peronny, 2005).

La caractéristique la plus déterminante des tanins est leur capacité de former des complexes (par précipitation) avec les polymères naturels comme les protéines nutritives, les enzymes digestives, les polysaccharides (amidon, cellulose, hémicellulose, etc.), les acides gras, les acides nucléiques et les acides aminés. De plus, ces derniers (tanins) sont capables de faire précipiter les ions métalliques et particulièrement le Fer, les carbonhydrates et les alcaloïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

Les tanins présentent des propriétés antioxydantes remarquables, ont de grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol. L'efficacité antioxydante dépend de leur structures chimiques : les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 20 fois plus efficaces que les phénols simples. Ces tanins sont de très bons capteurs de radicaux libres, ils donnent des protons aux radicaux lipidiques produits lors de la peroxydation d'où la formation de radicaux tanniques plus stables, les réactions en chaîne de l'autooxydation lipidique sont ainsi stoppées (Rehaba *et al.*, 2002).

Des études *in vivo* ont montré l'effet scavenging des proanthocyanidines qui est meilleur que celui de l'acide ascorbique, de la vitamine E et  $\beta$  carotène (Fine, 2000).



En effet, Ils inhibent également l'autooxydation de l'acide ascorbique et du linoléate; et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes.

Des expériences *in vitro* ont démontré une spécificité des proanthocyanidines pour le radical hydroxyle, en plus un effet d'inhibiteur non compétitif sur l'activité de la xanthine oxydase. Et d'une façon très marquée chélate les molécules de fer libres (Fine, 2000).

## II. Interaction polyphénols-protéines

### II. 1. Généralités

Les polyphénols sont actuellement l'objet de nombreuses études à cause de leur action bénéfique sur la santé. L'une de leurs propriétés est de former des complexes avec les protéines, la complexation tanin-protéine pouvant être à la base de nombreux effets biologiques des polyphénols (pharmaceutiques et agroalimentaires) (Carvalho *et al.*, 2004).

L'astringence est l'une des conséquences de ce concept de complexation, qui résulte de la précipitation, sous l'influence des polyphénols et des protéines de la salive, qui perd ainsi ses propriétés lubrifiantes. Le mécanisme d'interaction est mal connu, dépendant de nombreux facteurs tant au niveau du polyphénol que de la protéine ainsi que des conditions du milieu (Simon, 2003).

Les polyphénols ont une affinité significative pour les protéines et les peptides qui contiennent une proportion élevée de résidus de proline dans leurs séquences. En effet, les prolines possèdent un caractère hydrophobe prononcé concèdent un rôle important dans la structure des protéines. Les plus basses affinités ont été obtenues pour les petites protéines globulaires compactées tels que les lysozymes (Hagerman et Butler, 1978).

L'ensemble des protéines salivaires a une grande capacité à interagir avec les tanins. Récemment la Sérum Albumine Bovine (BSA) est l'une des protéines qui possède l'habileté à se complexer avec les polyphénols, souvent utilisé comme protéine modèle pour la compréhension du concept d'interaction des protéines avec les tanins et les polyphénols en général, c'est l'une des protéines les plus importantes du groupe Sérum Albumine, elle détient plusieurs fonctions biologiques indispensables (transport de molécules bioactives), sa conformation est globulaire, possédant une

séquence très similaire à celle de la protéine HSA (Human Serum Albumin), ce qui la rend une protéine de choix (Alais et Linden, 1987 ; Carvalho *et al.*, 2004 ; Prigent, 2005).

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

De nouvelles avancées dans le domaine de la nutrition ont permis d'affiner les bases d'interactions polyphénols-protéines, en s'inspirant de plusieurs modèles élaborés, cherchant désormais à mettre la nature de cette interaction d'un point de vue chimique et physique. Chaque modèle réactionnel suit ses propres références, Nous nous proposons d'étudier ici un modèle de complexation, mais ces données sont globales, ne tenant pas de la constitution de chaque cas de façon de réagir à telles conditions notables (pH, force ionique,...).

Parmi ces modèles, on peut citer celui proposé par Prigent (2005), qui est basé sur le degré de polymérisation des polyphénols et le rapport polyphénols/protéines, deux types d'interactions ont été présentées:

### ➤ **Interaction monodentée**

Chaque composé phénolique est capable de se fixer à un seul site de liaison sur la protéine. A de hautes ratios molaire de composés phénoliques / protéines, les polyphénols forment une mono-couche à la surface de la protéine. Cette couche est moins hydrophile que la protéine elle-même ce qui pourrait conduire à une agrégation.

### ➤ **Interaction multidentée**

Ce mécanisme fait intervenir les composés phénoliques de haut poids moléculaire, l'interaction se fait sur plus d'un site de liaison avec la protéine pouvant ainsi former des ponts entre les protéines. De cette manière, l'hydrophobie du complexe augmente donc précipite. Ce mécanisme requiert un rapport molaire composés phénoliques / protéines beaucoup plus faible que le mécanisme monodenté.

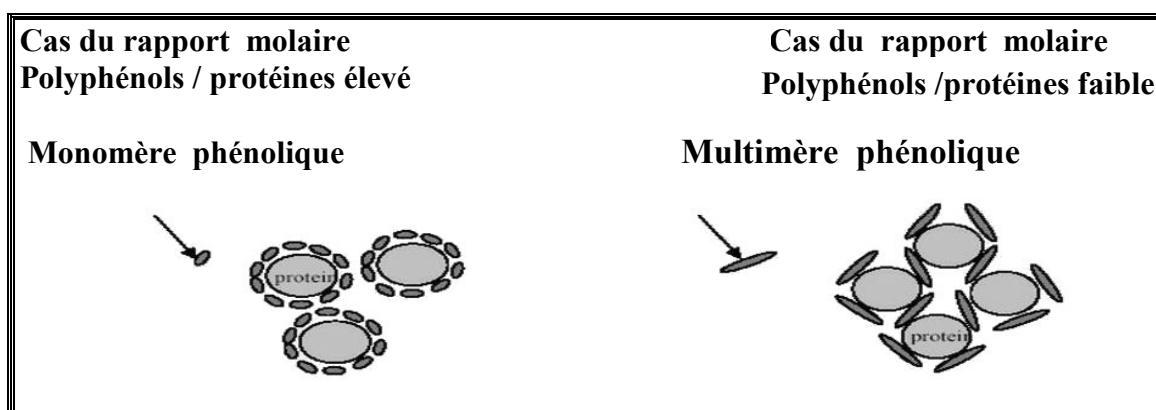


Figure 11 : Mécanismes monodenté et multidenté proposés par Prigent (2005).

### II. 3. Différents types de liaisons

Les Liaisons hydrogènes et hydrophobes sont les forces majeures de l'interaction en conditions physiologiques. Selon certains auteurs, les tanins et les protéines interagiraient majoritairement via des interactions hydrophobes entre le groupement latéral (pyrrolidine) de la proline et les cycles aromatiques des polyphénols. Dans ce cas, les liaisons hydrogène, apparaissant comme secondaires, serviraient à stabiliser le complexe (Simon, 2003). Quant aux liaisons hydrogène seraient procurées entre les groupements phénoliques des tanins et différents groupes récepteurs (-NH-, -CO-, -OH-) des protéines ou d'autres polymères (Shahidi et Nacz, 2003). Le troisième type d'interaction, ionique, est probablement moins importante mais peut s'ajouter à l'ensemble des interactions précédentes, entre les groupements anioniques, constitués par certains cycles benzéniques des tanins et des groupes cationiques des protéines (Figure 12) (Simon, 2003).

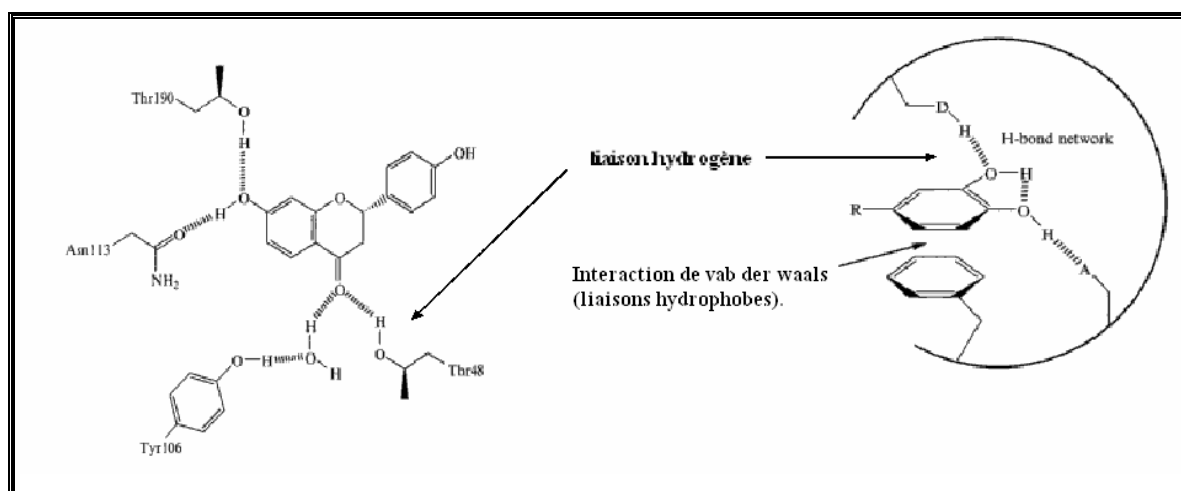


Figure 12 : Modèle de liaison polyphénols protéines (Andersen *et al.*, 2007).

Les liaisons de covalence, provenant dans le cas de la réaction de fonctions quinones, qui peuvent exister dans la structure des tanins ou apparaître lors de leur oxydation, sur certains groupes actifs des protéines ou d'autres polymères. Les liaisons de ce troisième groupe sont importantes, car se sont elles qui donnent à la combinaison tanins-protéine (ou tanin – polymère) sa stabilité.

## **II. 4. Paramètres influençant les interactions entre polyphénols et protéines**

L'aptitude des polyphénols à se complexer avec les protéines est contrôlé par plusieurs paramètres, ces paramètres définissent l'affinité ou la taille du complexe, qui peuvent être regroupés en deux classes : ceux qui sont intrinsèques à la nature de la protéine et du polyphénol, mais aussi les conditions dans lesquelles ont lieu ces complexations (Simon, 2003).

### **II. 4. 1. Paramètres intrinsèques**

#### **II. 4. 1. 1. Les paramètres liés aux molécules de protéines**

L'affinité des tannins pour les protéines varie selon la grandeur (taille), la structure, la composition, la conformation et la charge des molécules de protéines (Bennick, 2002).

Une protéine trop longue pourrait avoir tendance à se replier, masquant ainsi des sites de fixation, ce qui limitera la reconnaissance des sites d'interaction entre tanins et protéines (Hagerman et Butler, 1981 ; Simon, 2003). En outre, plus la protéine est longue plus le nombre de sites potentiels est important, car l'augmentation du nombre de prolines suffit à augmenter le nombre de sites de liaison et ces protéines ont tendance à être précipitées facilement par les tannins (Naczki *et al.*, 2006 ; Siebert, 2006). Varie aussi selon la structure de la protéine, en effet la teneur en pourcentage de la protéine en proline est très importante, les prolines sont impliqués dans les sites de liaison des polyphénols aux protéines, ces résidus proline favorisent la formation d'une structure tridimensionnelle ouverte pour faciliter l'accès des polyphénols (Hagerman et Butler, 1981).

### II. 4. 1. 2. Les paramètres liés aux molécules de polyphénols.

Il a été établi que l'affinité des composés phénoliques pour les protéines en solution augmente, avec le degré de polymérisation et de galloylation des polyphénols; ainsi plus la taille du polymère est importante, plus élevé le nombre de groupements hydroxyles, par conséquent la probabilité de présence des sites de liaison est élevée : plus l'interaction polyphénols-protéines est importante (Hagerman, 1998). Par exemple, les trimères de proanthocyanidines lient plus fortement la BSA que ses dimères (Artz *et al.*, 1987). Les résultats obtenus par Richard (2006) confirment l'importance de la charge et de la flexibilité des composés phénoliques dans la formation tridimensionnelle des complexes polyphénols - protéines.

### II. 4. 2. Paramètres extrinsèques

#### II. 4. 2. 1. Effet du pH

Le pH est un facteur très important dans la formation de complexe polyphénols-protéines, de sorte que plus le pH est bas et plus le complexe semble stable.

Hagerman et Butler (1981) suggèrent que les interactions tanins-protéines sont très élevées aux environs du pH isoélectrique (pH 4,9) de la protéine où les forces de répulsions électrostatiques sont minimisées (Hagerman et Butler, 1981).

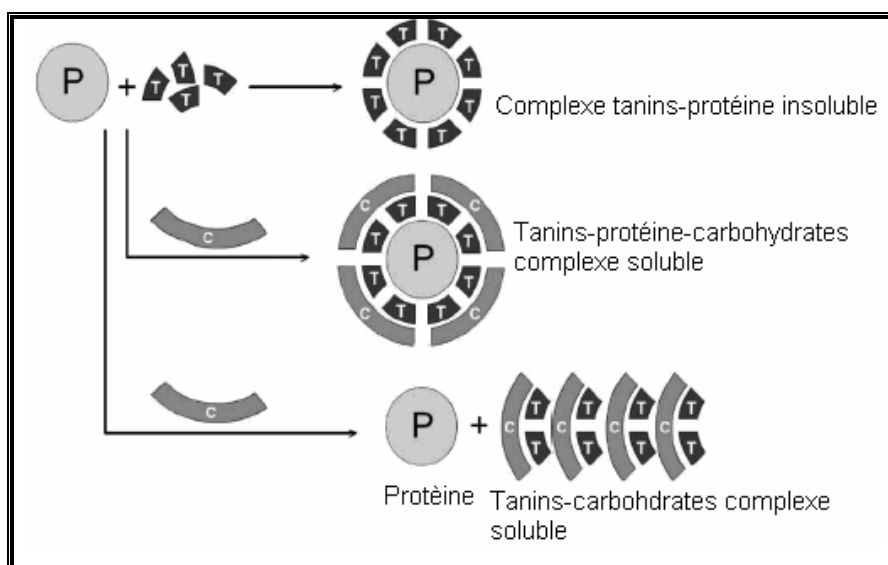
Naczka *et al* (1996) montrent que le pH optimum de précipitation se trouve à 0,3-3 unités en dessous du point isoélectrique des protéines étudiées. Ils concluent que cette précipitation ne dépend pas uniquement de la disponibilité des groupements phénoliques non ionisés pour la formation des liaisons hydrogénées mais aussi de type de protéines dans le mélange réactionnel (Prigent, 2005).

#### II. 4. 2. 2. Effet de la force ionique

L'augmentation de la concentration ionique fait accroître fortement la complexation de polyphénols aux protéines, ayant pour résultat des dimensions particulières beaucoup plus élevées. L'influence de la concentration ionique est probablement due à l'augmentation des interactions hydrophobes entre les protéines et les polyphénols (Edelmann *et al.*, 2003), telle que la présence d'ions inorganiques (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) qui favorise la précipitation du complexe tanins-protéines (Simon, 2003).

### II. 4. 2. 3. Effet des carbohydrates

Les polyphénols en plus de leurs propriétés de précipiter les protéines, peuvent complexer les hydrates de carbone (Saucier *et al.*, 1998), résultant d'une interaction coopérative de liaison hydrogène entre les groupes hydroxyles de ces hydrates de carbone et les groupes hydroxyles phénoliques, capables ainsi d'encapsuler les polyphénols et d'empêcher leur interaction avec les protéines formant de ce fait des complexes hydrosolubles, par conséquent il a été observé que le taux des agrégats insolubles diminue avec l'addition des carbohydrates. Dans un autre cas les carbohydrates s'adsorbent à la surface des tannins après la formation du complexe protéines-tannins qui devient soluble par le caractère hydrophile des carbohydrates. (de Freitas *et al.*, 2003 ; Mateus *et al.*, 2004 ; Madhan *et al.*, 2005). En fait, les hydrates de carbone doivent avoir une structure et une composition appropriée (caractère ionique), aussi bien qu'une taille et une flexibilité suffisante pour pouvoir complexer les polyphénols (De Freitas *et al.*, 2003).



**Figure 13 :** Effet des carbohydrates sur l'interaction tanins-protéines (Mateus *et al.*, 2004) (P : Protéine, T : Tanin, C : Carbohydrate).

### III. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les plantes ont une grande capacité de synthèse de substances aromatiques, tels que les polyphénols qui sont des principaux composés antimicrobiens. Dans beaucoup de cas, ces substances servent de mécanismes de défense pour les plantes contre une grande catégorie de microorganismes procaryotes et eucaryotes (virus, bactéries et

champignons, les insectes, et les herbivores), ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices ou létales (Leclerc, 1983 ; Ríos, 2005).

### III. 1. Activité antimicrobienne des acides phénoliques

La toxicité des acides phénoliques vis-à-vis des microorganismes est en relation directe avec le(s) site(s) et le nombre de groupements hydroxyles substitués sur le noyau benzénique (Cowan, 1999), l'augmentation de l'hydroxylation augmente la toxicité.

Ces groupements hydroxyles sont responsables de l'inhibition enzymatique, en se liant aux ponts disulfures ou à la formation des ponts hydrogènes avec les molécules membranaires (Cuq et Jaussan, 1991). Plusieurs auteurs ont démontré que les acides phénoliques, fortement oxydés ont une activité plus inhibitrice. Il apparaît que l'acide caféique ne présente pas d'activité antibactérienne sur un streptocoque fécal, par contre ses dérivés d'oxydation possèdent un pouvoir antibactérien qui augmente avec leur concentration et avec leur degré d'oxydation ( $\text{pH} \geq 8$ ) (Cuq et Jaussan, 1991).

### III. 2. Activité antibactérienne des flavonoïdes

L'activité antimicrobienne des flavonoïdes est due probablement à leur capacité à se complexer avec les protéines solubles extracellulaire, et avec les protéines membranaires grâce à leurs propriétés interactionnelles. Ils ont ainsi un pouvoir inhibiteur sur les différentes fonctions de la membrane cytoplasmique en réduisant sa fluidité. Ces composés ont aussi une activité bactéricide et bactériostatique en perturbant les métabolismes énergétiques (Scalbert et Williamson, 2000). Des études faites dernièrement montrent que l'administration orale des flavonoïdes avec des quantités bien suffisantes protège contre des infections causées par *Shigella*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* en inhibant son enzyme ADN gyrase (Hadi, 2004).

### III. 3. Activité antimicrobienne des tanins

Dans les plantes, les tannins ont une action protectrice contre l'attaque des microorganismes en particulier en se déposant dans les parois cellulaires (Richer, 1993). Cette inhibition provient de la capacité des tanins à former des complexes avec les

protéines (Naguz et al., 1994). Le degré d'inhibition dépend du type de tanin et de micro-organisme ; les tanins condensés ont un effet répressif plus important sur l'activité de beaucoup d'enzymes et micro-organismes par rapport aux tanins hydrolysables et aux phénols à faibles poids moléculaires (Macleod, 1974 ; Scalbert et Williamson, 2000).

Plusieurs études *in vitro*, sur les effets des tanins sur la croissance, la morphologie et le métabolisme de certaines bactéries ont démontré une activité inhibitrice vis-à-vis des espèces *Streptococcus gallolyticus* et *Streptococcus bovis*. L'acide tannique déstabilise leurs divisions cellulaires en augmentant le nombre de cellules mal formées qui présentent des lésions ce qui suggère que les cellules subissent une division incomplète (O'Donovan, 2001). Les bactéries à gram positif sont plus sensibles aux tanins que les bactéries à gram négatif ceci est due à la différence dans la structure de leurs membranes (Inouye, 2001 ; lienmuller et al., 1991 ; Valnet, 1984).

### III. 4. Sites d'actions antimicrobiennes des polyphénols

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer et l'inhibition du métabolisme microbien (Hadi, 2004) Parmi ces modes d'action, on cite :

#### III. 4. 1. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques

Des études ont montré que la synthèse d'ADN a été inhibée fortement par les flavonoïdes (robinetine, myricetine et l'epigallocatechine) chez *Proteus vulgaris*, et que la synthèse d'ARN était le plus affectée chez *Staphylococcus aureus*. Et par conséquent, la synthèse des protéines et des lipides est aussi affectée mais à moindre ampleur. Les auteurs ont suggéré que le cycle B des flavonoïdes joue un rôle dans l'intercalation de bases de l'acide nucléique, et que cela peut expliquer l'action inhibitrice sur la synthèse d'ADN et d'ARN. Cette activité a été démontrée aussi vis-à-vis de l'enzyme ADN gyrase d'*Escherichia coli* par la quercétine, en suggérant cet effet par l'interaction avec le cycle B de ces composés. Par contre le flavonol glycosylé, (rutine) est un inhibiteur très efficace de l'enzyme topo-isomérase II chez



*Escherichia coli*, (une enzyme nécessaire aux réparations de l'ADN) (Scalbert et Williamson, 2000).

### III. 4. 2. Inhibition du fonctionnement de la membrane cytoplasmique

L'effet de sophoraflavanone sur les liposomes par interaction au niveau des régions hydrophiles et hydrophobes, en réduisant la fluidité des couches externes et internes de la membrane. Un autre effet de la naringénine sur la membrane mais à des concentrations beaucoup plus hautes. En effet, Le sophoraflavanone G exerce une activité antibactérienne en réduisant la fluidité de la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes (Scalbert et Williamson, 2000).

L'epigallocatechine gallate montre une grande activité contre les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives. La présence d'epigallocatechine gallate induit la fuite de petites molécules dans l'espace intraliposomal. Par conséquent d'autres études ont conclu que ces catéchines détruisent la membrane bactérienne (Cowan, 1999 ; Cushnie *et al.*, 2005). Il a été suggéré que la basse susceptibilité du catéchine envers les bactéries Gram négatives peut être attribué à la présence de lipopolysaccharide qui offre à la bactérie sa toxicité en agissant comme une barrière. L'influence de galangine (flavonoïde) sur *Staphylococcus aureus* induit l'entrée du potassium intracellulaire en entraînant une lyse cellulaire par la pression osmotique (Scalbert et Williamson, 2000).

### III. 4. 3. Inhibition du métabolisme d'énergie

Une étude sur le mode d'action antibactérienne de deux retrochalcones (licochalcone A et C) montre une activité inhibitrice de la consommation d'oxygène chez *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* par l'action sur NADH-cytochrome-C-reductase dans le transport des électrons dans la chaîne respiratoire bactérienne (Cushnie *et al.*, 2005).

La figure suivante représente une cellule bactérienne où sont représentés les emplacements présumés être des sites d'action antibactérienne pour les composés phénoliques : Dégradation de la paroi ; altération de la membrane ; dénaturation des protéines membranaires, fuite de contenu cellulaire, coagulation de cytoplasme et épuisement de la force motrice de proton (Burt, 2004).

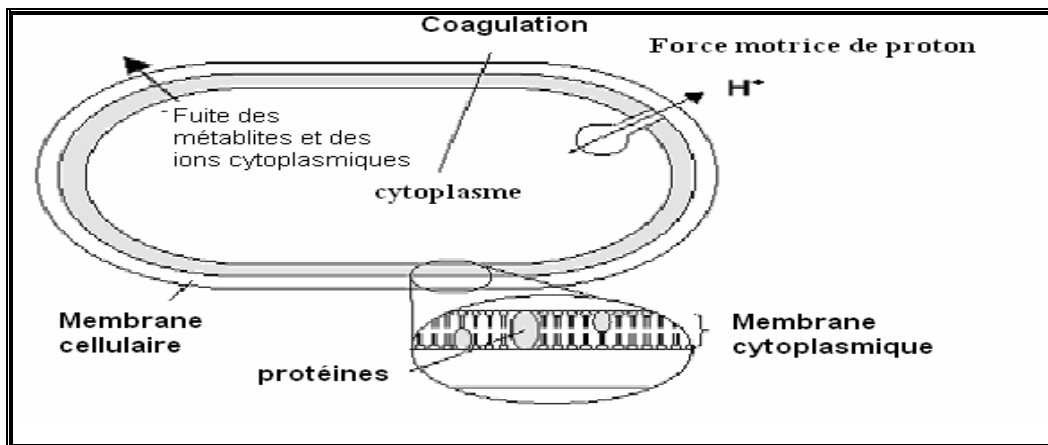


Figure 14 : Sites d'action antibactérienne des composés phénoliques (Burt, 2004).

## I. Matériel végétal

La présente étude tente de tester quelques propriétés biologiques de cinq plantes de la flore locale. Avant la collection des plantes, une enquête ethnobotanique a été établie auprès des personnes connaisseurs et détenant une certaine expérience dans le domaine de la phytothérapie, fondé sur leurs emploi comme traitement traditionnels, davantage l'ensemble des plantes sélectionnées font partie à la fois au domaine de plantes médicinales et aromatiques utilisées dans les préparations alimentaires quotidiennes.

Les cinq plantes étudiées: *A. graveolens* L., *C. sativum* L., *L. nobilis* L., *M. piperita* L. et *P. sativum* L. sont récoltées dans la région de souk tenine (wilaya de Bejaia), entre le mois de février et avril de l'année 2007 (Tableau VIII), la récolte a été faite dans les meilleures conditions possibles, d'une manière aléatoire. L'identification des plantes a été faite à l'état frais après leur récolte (laboratoire de physiologie végétale, université de Bejaia), L'identification étant plus facile à l'état frais du matériel végétal, c'est pour cela l'identification a été faite avant le séchage (Judd et *al.*, 2002).

Les feuilles sont débarrassées des débris et autres particules (poussières, rosée,..) pour cela les feuilles sont nettoyées au préalable avec de l'eau distillée.

**Tableau VIII:** Noms scientifiques et communs et périodes de cueillette des plantes médicinales étudiées.

Nom Scientifique	Appellation commune	Période
<i>A. graveolens</i> L.	Célieri	Début avril
<i>C. sativum</i> L.	Coriandre	Début mars
<i>L. nobilis</i> L.	Laurier	Fin février
<i>M. piperita</i> L.	Menthe poivrée	Fin février
<i>P. sativum</i> L.	Persil	Mi-mars

## II. Méthodes

### II. 1. Préparation des échantillons

Dans le but d'extraire les principes actifs des différentes plantes, celles-ci ont subit plusieurs traitements qui consistent en :

### **II. 1. 1. Test d'humidité et séchage**

Le test d'humidité a été effectué comme suit :

Pour chaque plante : dix échantillons de 1g, un de 10g et un autre de 100g sont portés à 103 °C pendant 4 heures selon la norme française (NF V 04 - 401).

La teneur moyenne en eau des échantillons étudiés est calculée comme suit :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{(\mathbf{Mf} - \mathbf{Ms})}{\mathbf{Mf}} \times 100$$

**Mf**

**Mf** : Masse de l'échantillon avant le séchage (frais).

**Ms** : Masse de l'échantillon après le séchage (sec).

Le reste des feuilles a subi un séchage à l'étuve (40°C), pendant une période variable d'une espèce à l'autre selon les résultats de la mesure du taux d'humidité (Mau et *al.*, 2004).

### **II. 1. 2. Broyage et tamisage**

Les feuilles séchées ont été réduites en poudres, puis tamisées dans le but d'obtenir une poudre très fine. Seules les fractions les plus fines (< 45 µm) qui sont utilisées pour l'extraction.

### **II. 2. Extraction des composés phénoliques**

Le solvant utilisé est le méthanol pur qu'est l'un des solvants qui donne le meilleur rendement d'extraction (Ribereau-Gayon, 1968).

L'extraction opérée dans cette étude est de type solide/liquide qui est réalisée par contact direct entre le solide et le solvant. Ce procédé désigne la séparation des composés phénoliques solubles par diffusion à partir d'une matrice solide (poudre) en utilisant une matrice liquide (solvant).

Le procédé d'extraction pour chaque plante est réalisé comme suit:

- 200 mg de la poudre la plus fine à diamètre < 45 µm (afin d'augmenter la surface de contact entre les particules et le solvant) sont macérées dans un volume ajusté jusqu'à 500ml de méthanol (99%).
- Le mélange est soumis à une agitation mécanique à température ambiante, durant 168 heures afin de rentabiliser ce procédé d'extraction. (l'agitation du

milieu a pour effet d'augmenter la surface de contact entre les phases et de favoriser la diffusion du soluté).

- Après filtration, la solution méthanolique est concentrée au rotavapor (BUCHI R-200) sous une pression de 337 bar à 40°C et jusqu'à avoir un volume d'extrait d'environ 4ml, le séchage est complété à l'étuve (40°C) jusqu'à avoir un poids constant d'extrait sec.
- Les extraits secs obtenus sont reconstitués dans le méthanol (99%) à raison de 2mg /ml.

## **II. 3. Dosage des polyphénols**

### **II. 3. 1. Dosage des composés phénoliques totaux**

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques. La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 750 nm. (Ribéreau-Gayon et *al.*, 1982).

- **Mode opératoire**

La teneur en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques a été déterminée selon la méthode décrite par Owen et Johns (1999) avec quelques modifications.

2,5 ml d'une solution d'extrait méthanolique (0,25mg /ml) dans du méthanol /eau 50% (V/V) est chauffée préalablement à 50°C pendant 15 min, additionnée de 22,5ml d'eau distillée et de 0,5ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) .Après 5min, 1,5 ml de carbonate de sodium monohydraté (200g/l) sont ajoutés au mélange réactionnel. Après une heure d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 740 nm (longueur déterminée après un balayage spectral allant de 400 à 800 nm).

La quantité de composés phénoliques totaux de l'extrait est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage préparée avec de l'acide gallique, exprimée en mg équivalent d'acide gallique.

### **II. 3. 2. Dosage des polyphénols polaires**

La méthode utilisée est celle rapportée par Owen et Johns (1999), dont le principe repose sur la réaction des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu à 2N.

Un volume de 3,0 ml de chaque extrait méthanolique (0,25mg /ml) est soumis à une centrifugation à 3500 tours/min pendant 15min. Après incubation à température ambiante pendant 24 heures le surnageant est récupéré, ce dernier est additionné de 0,5ml du réactif de folin-ciocalteu à 2N. Après 5min, 1,5ml de carbonate de sodium monohydraté sont ajoutés. Le mélange est soumis à une centrifugation à 6000 tours /min est indispensable pour éliminer la turbidité, le surnageant ainsi obtenu, fait l'objet d'une lecture à 750nm.

La quantité de polyphénols polaires, contenue dans les extraits de plantes est calculée à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique.

### **II. 3. 3. Détermination des polyphénols apolaires**

La quantité de polyphénols apolaires contenus dans les extraits de plantes est obtenue par soustraction du taux de polyphénols polaires de celui des polyphénols totaux selon Owen et Johns (1999) :

$$T_{ap} = T_t - T_p$$

Où :

**T<sub>ap</sub>** : Taux de polyphénols apolaires.

**T<sub>t</sub>** : Taux de polyphénols totaux.

**T<sub>p</sub>** : Taux de polyphénols polaires.

### **II. 3. 4. Dosage des flavonoïdes totaux**

- **Principe**

La majorité des dérivés flavonoïques naturels possèdent un groupement OH libre en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement cétonique en position 4, des complexes jaunâtres en présence d'aluminium. L'OH en position 3, dans la mesure

où il n'est pas engagé dans une liaison hétérosidique, peut également intervenir dans la formation des complexes (Ribereau-Gayon, 1968)

- **Mode opératoire**

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits des feuilles est réalisée par la méthode colorimétrique de Bahorun et ses collaborateurs (1996). La quantité de flavonoïdes contenue dans les extraits de plantes est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine.

1 ml de la solution méthanolique  $\text{AlCl}_3$  (2%) est ajouté à 1 ml de chaque extrait (0,2 mg/ml). Après 10 min d'incubation l'absorbance est mesurée à 430 nm.

### **II. 3. 5. Dosage des tanins**

- **Principe**

La principale propriété des tanins est leur aptitude à se combiner aux protéines, cette dernière constitue un des principes de leur quantification. Cependant cette propriété est liée aux conditions du milieu réactionnel (pH, température, force ionique) (de Freitas *et al.*, 2003 ; Naczki *et al.*, 2006).

Le principe de la méthode repose sur la précipitation des tanins en présence de la protéine BSA (Bovin Serum Albumin). Les complexes tanins-protéines réagissent avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), en milieu alcalin et en présence du dodécyl sulfate de sodium (SDS) et du triéthanolamine (TEA), pour former des chélates de couleur violette, dont la formule générale est  $\text{Fe}(\text{OR}^{3-})$ , où le  $\text{OR}^-$  représente le polyphénol ionisé, et elle est proportionnelle à la quantité de tanins présente dans les échantillons (Hegerman et Butler, 1978).

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essai 1ml d'extrait méthanolique (1 mg /ml) est ajouté à 2ml d'une solution BSA (1mg/ml), préparée dans un tampon acétate (pH 4,9 ; 0,20M). Le mélange est agité immédiatement et incubé à 4°C pendant 24 heures, les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 tours /min pendant 15min, Le surnageant est jeté et le précipité est dissout dans 4 mL de la solution de SDS/TEA (mélanger jusqu'à la dissolution du précipité), le mélange est incubé à l'obscurité pendant 15 min, puis on mesure la lecture de la première absorbance ( $A_1$ ) à 510 nm, ensuite on ajoute au

mélange 1ml de la solution de FeCl<sub>3</sub>. Après une incubation de 15 minutes, la 2<sup>ème</sup> lecture de l'absorbance (A<sub>2</sub>) est effectuée au spectrophotomètre contre un tube témoin où l'échantillon est remplacé par un volume équivalent de méthanol. La longueur d'onde maximale est fixée à 510 nm par un balayage spectral allant de 400 à 800 nm. La lecture due aux tannins est calculée comme suit :  $A_{\text{tannins}} = A_2 - A_1$ .

En se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique, les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par gramme de matière sèche.

## **II. 4. Activités biologiques**

### **II. 4. 1. Détermination de l'activité antioxydante**

Les méthodes évaluant l'activité antioxydante ont connues un intérêt important vue la recherche des substances antioxydantes naturelles (Marc et *al.*, 2004). Les tests utilisés dans la présente étude sont le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur.

#### **II. 4. 1. 1. Pouvoir antiradicalaire**

- **Principe**

Le radical 2-2-diphényl 1-picryl-hydrazil (DPPH<sup>•</sup>) est stable ; il ne peut pas se dimériser, comme la plupart des radicaux libres, à cause de l'encombrement stérique autour de l'atome d'azote porteur de l'électron célibataire. Toutefois, ce radical peut être réduit par un transfert d'hydrogène qui provient des différents antioxydants qui se trouvent dans le milieu réactionnel. La réaction de réduction du DPPH provoque la diminution de l'intensité de sa couleur qui est mesurée par spectrophotométrie à 517 nm (Molyneux, 2004).

- **Mode opératoire**

Le pouvoir antiradicalaire est mesuré selon la méthode décrite par de Balasundram et *al.* (2005), avec quelques modifications.

A 100µl d'extrait de plante de différentes concentrations sont ajoutées 2ml de DPPH (0,2mM) fraîchement préparé, les solutions sont ensuite agitées au vortex puis incubées à l'obscurité pendant 30min (température ambiante). Un contrôle est préparé avec la même solution de DPPH et du méthanol. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm.



Le pourcentage de réduction du radical DPPH est donné par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de réduction du DPPH} = [(At - Ae)/At]100$$

At : absorbance du témoin ;

Ae : absorbance de l'échantillon.

#### **II. 4. 1. 2. Pouvoir réducteur**

- **Principe**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique en fer ferreux en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] et de l'acide trichloracétique (milieu acide) (Gulçin et *al.*, 2005).

La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur des extraits de plantes est déterminé selon la méthode décrite par Haung et *al.* (2006). Un volume de 1,25 ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) est ajouté à 1,25 ml d'extrait de plante de différentes concentrations, suivi de 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1%), après agitation le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. Un volume de 1,25 ml trichloracétique à 10% est additionné au mélange avant d'être centrifugé à 3000 tours/min pendant 10min. A partir de ces tubes 2,5 ml sont prélevés, puis additionnés de 2,5ml d'eau distillée et de 0,5ml de chlorure ferrique (0,1%), l'absorbance est mesurée à 700nm.

#### **II. 4. 2. Interaction polyphénols protéines**

Afin d'étudier le phénomène d'interaction entre les polyphénols et les protéines, une protéine de référence qui est la BSA (Bovin Serum Albumin) a été utilisée. Elle est constituée de 583 acides aminés, avec un poids moléculaire de 66 kDa (Simon, 2003 ; Siebert et *al.*, 1996).

## **II. 4. 2. 1. Effet de la concentration des extraits**

- **Principe**

L'effet de la concentration des extraits de plantes sur l'interaction polyphénols protéines (BSA) est déterminé par l'évolution de la turbidité de la solution en fonction de la concentration des extraits, après avoir mélangé la solution protéique (BSA) et les extraits de plantes. Le suivi analytique de la turbidité est fait par spectrophotométrie, en mesurant la densité optique de la solution obtenue à une longueur d'onde de 420nm, qui a été déterminée après avoir réalisé un balayage spectral (Simon, 2003).

- **Mode opératoire**

A 1ml de BSA (1mg /ml, préparée dans le tampon phosphate pH 6.9, 0.64 mM) est ajouté 1ml de chaque concentration d'extrait de plante (2, 1, 0,75, 0,5 et 0,25 mg/ml). L'absorbance est lue à 420 nm après une heure d'incubation à 37C° contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol (Naczka *et al.*, 1996).

## **II. 4. 2. 2. Effet de la force ionique**

L'augmentation de la force ionique a été réalisée dans le but de voir son effet sur la formation des complexes polyphénols-protéines.

- **Mode opératoire**

L'effet de la concentration de NaCl sur la formation des complexes polyphénols-protéines est analysé selon la méthode préconisée par de Freitas *et al.* (2003) avec quelques modifications.

A 1ml d'extrait méthanoïque (1mg/ml) est ajoutée 1ml de BSA (1mg/ml, préparée dans le tampon phosphate pH 6.9, molarité 0.64 mM) et 1ml d'une solution NaCl (0,01 à 0,125 M), après agitation de mélange l'absorbance est lue à 420 nm après incubation à 37°C pendant une heure, contre un témoin préparé avec du méthanol.

## **II. 4. 2. 3. Effet du pH**

Afin d'étudier l'influence de ce paramètre sur les complexes polyphénols-protéines, on fait varier le pH du milieu réactionnel de la protéine BSA selon la procédure préconisée par de Freitas et Mateus (2001b).

pour cela 1ml de chaque extrait de plante (0,5mg/ml) est ajouté à 1ml de BSA (1mg/ml) préparée dans des tampons phosphate à différent pH (2,5 - 3,5 - 4,5 - 5,5 -

6,5 – 7,5). En parallèle un témoin est préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol. La lecture de la densité optique est faite à 420 nm après une heure d'incubation à 37°C.

### **II. 4. 3. Activité antibactérienne**

Pour une éventuelle activité antibactérienne des extraits de plantes étudiés et afin de comparer entre l'aptitude de chaque extrait de plante à inhiber certaines bactéries pathogènes, la technique des disques en papier a été choisie pour évaluer cette activité, le principe de cette méthode repose sur la diffusion de l'extrait à partir des disques contenant les principes actifs et disposés sur un milieu solide. L'apparition de zones incolores au tour des disques révèle la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis de l'extrait utilisé. Plus la zone d'inhibition est grande, plus grande est la sensibilité de la souche bactérienne testée.

Les souches bactériennes testées sont procurées à partir de deux laboratoires médicaux (Laboratoire Médical du Dr Lalaoui et Laboratoire Médical du Dr Moualek). Le nombre de souches bactériennes testées est de quatre : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Mode opératoire**

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée selon la méthode de Kuete et al. (2006). La suspension bactérienne doit être de 18 à 24 heures maximum, la préparation de l'inoculum consiste à revivifier les souches dans un bouillon nutritif, et effectuer leur isolement dans leur milieu sélectif (milieu d'isolement).

Dans l'eau distillée stérile la suspension bactérienne (préalablement revivifiée et isolée), diluée et ajustée jusqu'à l'obtention d'une opacité de Mac Farland 0.5 ( $10^8$  UFC/ml, correspondant à une DO de 0.1 à 600 nm). Cette suspension est diluée au 1/100, pour donner un inoculum de  $10^6$  UFC/ml.

0,5ml de l'inoculum préparé à partir de chaque souche sont soigneusement bien étalés à la surface de la gélose de Mueller- Hinton (MH). Des disques en papier Wattman stérile de 5 mm de diamètre sont imprégnés des différents extraits méthanoliques d'une concentration choisie, sont déposés dans les boîtes de pétri inoculées. Parallèlement un témoin est préparé dans chaque boîte, en imprégnant le

disque dans le méthanol. Les boîtes ainsi préparées sont mises à 4°C, pendant 8 heures puis incubées à 37°C durant 24 heures.

## **II. 5. Etude statistique**

Dans le but de comparer entre les différents résultats obtenus dans la présente étude, une analyse descriptive a été réalisée, à l'aide du logiciel Microsoft office Excel 2003, les moyennes étant exprimées sous la forme de moyenne  $\pm$  écart type, suivie par une analyse de la variance (ANOVA) avec le test LSD. Les données ont été organisées en utilisant le logiciel STATISTICA version 5.5.

Les résultats qui portent des lettres alphabétiques différentes, présentent des différences, contrairement à ceux qui portent des lettres identiques (*selon un ordre croissant  $a < b < c < d < e < f$* ). Toutes les données représentent la moyenne de trois essais.

## **I. Traitement des échantillons**

Des conditions appropriées de collecte, de séchage, de stockage sont essentielles pour garantir la qualité des plantes médicinales considérées dans cette étude. Car au cours des mois, voire des journées, des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus au moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques, ainsi la notion de chronobiologie, est applicable à la plante, certaines études ont même montré que, dans les cas extrêmes, le profil chimique peut être différent au cours de la même journée, c'est-à-dire à 8 heure, à 12h ou à 18h, ceci explique en partie les modalités traditionnelles en matière de cueillette liées à certaines époques, voire à certains jours précis (Wchit et Anton, 2003).

D'ailleurs, les monographies des plantes de la pharmacopée décrivent souvent des éléments macroscopiques, non pas indispensables par eux même à l'activité thérapeutique proprement dite, mais qui sont des « marqueurs » de moment optimal de la récolte, donnant certaines garanties pour la qualité de la matière première.

Des études ont permis de définir le moment optimal de la récolte :

Avant développement complet, au plus tard au moment de la formation des boutons floraux qui diminueraient leur teneur en principes actifs, Par temps sec, après le levé du soleil et la disparition de la rosée (Valnet, 1992 ; Wchit et Anton, 2003).

### **I. 1. Test d'humidité et séchage**

Le séchage des plantes a été réalisé afin de garantir une bonne conservation des échantillons, en inhibant les activités enzymatiques, et en empêchant la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne (RibéreauGayon, 1968).

Le séchage apparaît comme une étape essentielle, et un élément primordial, les techniques de dessiccation sont diverses, le choix de cette dernière dépend essentiellement de la partie de la plante utilisée, dans le cas des feuilles la température choisie est généralement aux environ de 40°C, loin de la lumière vive pour éviter toute modification de leur aspect et de leur activité car la composition peut varier selon les conditions de dessiccation, enfin les températures élevées peuvent engendrer la dégradation des substances thermolabiles, comme les polyphénols, les anthocyanes, et les vitamines (Boubaker *et al.*, 2004).

En effet, lorsque la plante est insuffisamment déshydratée, un ensemble d'enzymes : hydrolases, oxydases, polymérase sont à l'origine des réactions enzymatiques qui peuvent avoir des conséquences néfastes à la fois sur l'aspect des plantes, leurs caractères organoleptiques, mais aussi sur leurs activités biologiques et thérapeutiques dans la mesure où les constituants initiaux seront modifiés. En effet les feuilles de menthe riches en certains polyphénols brunissent sous l'effet d'oxydases, la transformation de la menthone en menthol d'odeur plus fine, a lieu pendant les premières heures de séchage à température de 70°C, cependant pour éviter de telles réactions enzymatiques qui ont besoin de la présence d'eau résiduelle, il est nécessaire d'effectuer le test d'humidité afin d'éliminer toute trace d'eau. Davantage, le séchage a une importance majeure pour l'extraction des polyphénols (Ribéreau Gayon, 1968).

En plus le matériel végétal séché peut être conservé pendant un certain temps sans modifications importantes. Ajoutant que la présence d'eau est un élément incommodant le rendement d'extraction (Scehovic, 1990 ; Owen et Johns, 1999).

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'évaluer la teneur en eau des plantes étudiées, et de fixer la durée du séchage de chaque plante, cette durée diffère d'une espèce à une autre selon sa teneur en eau. D'ailleurs, le temps de séchage est en corrélation avec l'humidité de chaque espèce qui varie de 06 à 08 jours (Annexe 4). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 15.

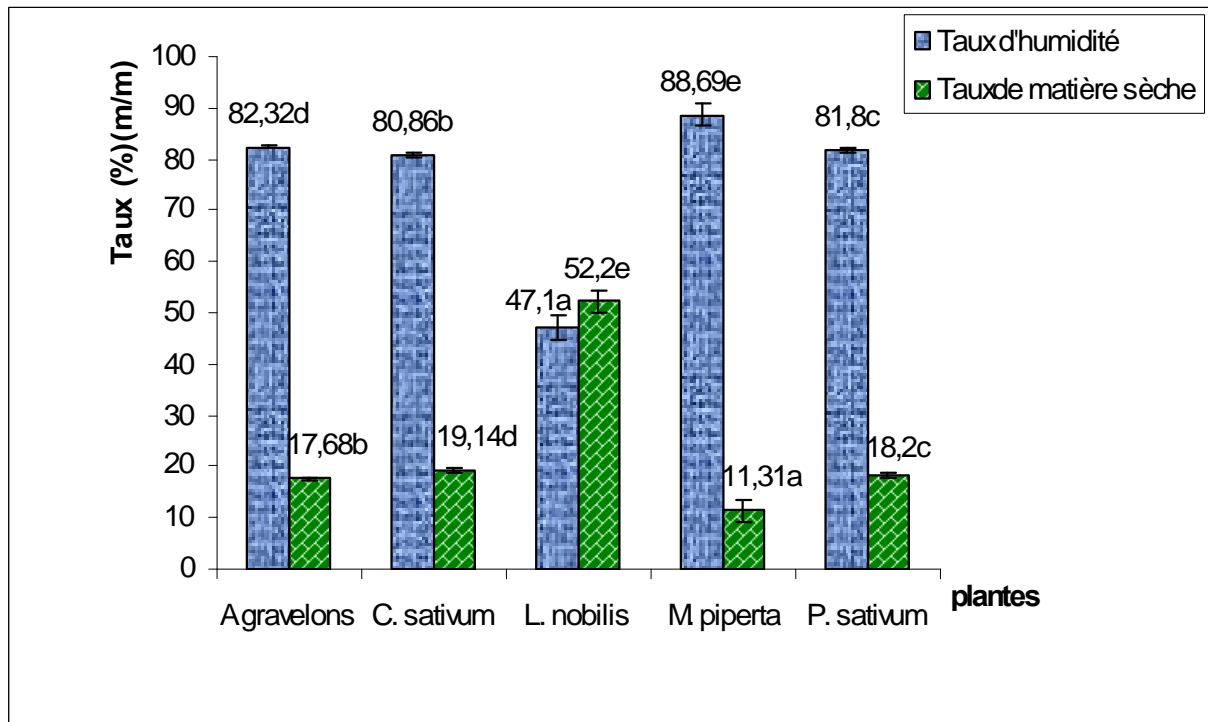


Figure 15 : Teneurs en eau et en matière sèche des différentes plantes.

Les résultats obtenus indiquent une richesse hydrique pour toutes les plantes étudiées, la teneur en eau varie en moyenne de 47 à 89 %, et le taux le plus élevé a été observé chez l'espèce : *M. piperita* L. (88,69 %), suivi de *C. sativum* L. (80,86%), le taux le plus faible est observé chez *L. nobilis* L. (47,10%), ce qui lui attribue une matière sèche plus importante par rapport aux autres plantes. Ces taux obtenus quelque soit ceux d'humidité ou de matière sèche présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) pour toutes les plantes étudiées.

Les résultats obtenus pour la teneur en eau sont comparables à ceux de la bibliographie, les teneurs de *M. piperita* L. et de *P. sativum* L. sont proches de celles trouvées par Munné-Potca et Alefre (2006) qui sont de 77 et 79,9 % respectivement. Pareillement pour *A. gravelons* L. et *C. sativum* L.; les teneurs trouvées sont voisines avec celles de Madao et Somyn (2007). La teneur en eau de *M. veridis* L. est de 63,2% (Brahmi, 2005), cette dernière est différente de celle obtenue dans ce présent travail, ce qui peut être expliqué par la variation des espèces utilisées (*M. veridis* L. et *M. piperita* L.). Park *et al.* (2002) ont classé la menthe parmi les plantes les plus riche en eau.

Les plantes comme l'ensemble des végétaux ont une teneur élevée en eau qui est de l'ordre de 80 à 90% de leur poids frais. L'eau joue un rôle très important dans la

plante, elle intervient dans le maintien des structures et dans le mouvement des organites ; mais également au niveau de l'organisme comme le transport des substances nutritives et permet le bon déroulement du métabolisme cellulaire. En plus, la teneur en eau, dépend de l'organe et de l'espèce, et l'âge de l'espèce considérée (Kellet *et al.*, 1989).

## **I. 2. Extraction**

L'extraction n'est qu'une étape de transformation de la matière première végétale en un extrait, toutes les étapes qui précèdent ou suivent l'extraction doivent être maîtrisées avec précision pour un produit final de qualité optimale (Monpon *et al.*, 1996).

Dans cet objectif le séchage, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer une poudre très fine dans le but d'optimiser l'extraction.

L'extraction des composés phénoliques est influencée par leur nature chimique, la méthode et la durée d'extraction, la granulométrie de la poudre et les conditions de stockage, mais aussi de l'existence des substances qui interfèrent, tels que les caroténoïdes (Levizou *et al.*, 2004). Les extraits phénoliques des plantes sont des mélanges de différentes classes de composés phénoliques qui sont solubles dans le solvant employé, néanmoins la solubilité des composés phénoliques est gouvernée par le type de solvant utilisé (polarité) (Naczk et Shahidi, 2004).

Il n'existe pas de méthode optimale pour l'extraction de tous les composés phénoliques ou une classe caractéristique de composés contenus dans les végétaux (Turkmen, 2006). C'est la nature du solvant qui conditionne l'impact physiologique de l'extrait ; ainsi que le choix de la méthode, en égard à la nature des constituants actifs dont on souhaite la présence dans les produits finis (Naczk et Shahidi, 2004 ; Tsao et Deng, 2004).

Le méthanol comme solvant d'extraction a été utilisé car il permet la solubilisation de la plupart de molécules pharmacologiquement actives (Oszmianski, 1995).

Turkmen *et al.* (2006) ont rapporté que le méthanol absolu est parmi les solvants qui donne les meilleurs rendements d'extraction à cause de sa polarité (jayaprakasha *et*



*al.*, 2007 ; Tsao et Deng, 2004). Aussi la macération permet une augmentation de la surface inter-physique ou /et par la création de conditions hydrodynamiques favorables permettant ainsi une bonne dispersion de la poudre dans le solvant (Koller, 2005).

En effet, l'extraction des polyphénols est difficile pour deux raisons principales :

- La première, ces composés sont extrêmement différents par rapport à leur structure, dans la plante ils se combinent avec les sucres, les protéines formant ainsi des dérivés polymérisés prospérant des points de solubilité distincts (Manach *et al.*, 2004 ; Oszmianski., 1995 ; Scalbert *et al.*, 2005). Leur structure chimique et leur interaction avec les autres composants sont des critères très importants à la sélection de solvant, de la méthode et des conditions d'extraction (Tura et Robards, 2002).

- La deuxième, les polyphénols sont susceptibles à l'oxydation, la température élevée et le milieu alcalin provoquent leur dégradation et leur modification par différentes réactions de polymérisation donnant ainsi naissance à de nouveaux composés (Druzynska *et al.*, 2007).

En conséquence, plusieurs facteurs affectent l'efficacité de l'extraction : la température, le rapport solide-liquide, la vitesse d'homogénéisation, et la taille des particules, ces paramètres n'ont pas perpétuellement des conséquences positives sur le procédé d'extraction pourraient modifier profondément la concentration des composés désirés dans l'extrait, le profil chimique de l'extrait par la dégradation thermique, et l'effet de saturation (Druzynska *et al.*, 2007). Le facteur temps joue une implication décisive dans le rendement d'extraction, en effet les travaux menés par Turkmen *et al* (2006) ont montré que la prolongation du temps d'extraction a une influence déterminante sur l'accroissement des rendements (Perva-Uzunalic *et al.*, 2006).

De même, les études menées par Shi *et al.* 2003 ; Spigno *et al.* (2007), ont démontré que le rendement d'extraction est plus élevé quand la vitesse d'homogénéisation, le poids de soluté utilisé, la taille des particules sont les plus faibles, le rapport solvant /soluté soit plus important (le maximum 7,5 :1). Les travaux menés par Meyer *et al.* (2002), ont démontré que la diminution des dimensions des particules de poudre augmente la surface de contact entre le solide et le solvant.

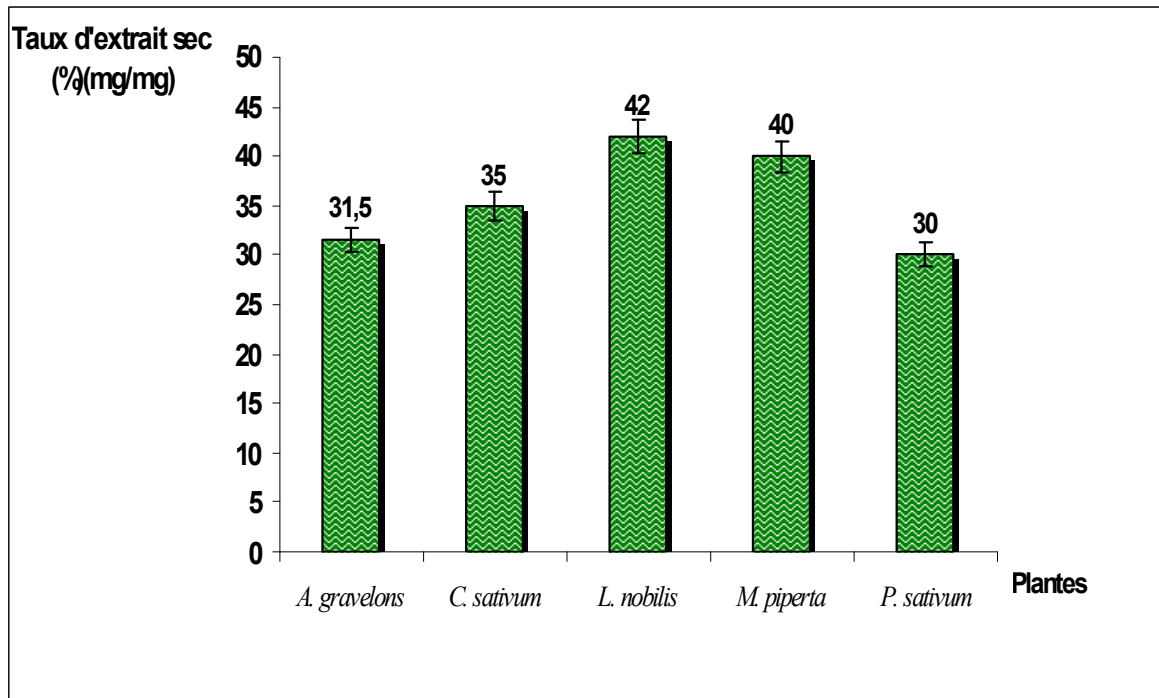


Figure 16 : Taux d'extrait sec des différentes plantes.

Le meilleur rendement est obtenu chez *L. nobilis* L. (42 % ; m/m) suivi par *M. piperita* L. (40%, m/m), *C. sativum* L. (35%, m/m). De faibles rendements ont été obtenus pour les deux autres espèces : *A. gravelons* L. (31,5%; m/m) et *P. sativum* L. (30 %; m/m).

D'après les résultats de Simic *et al.* (2003), le rendement d'extraction de *L. nobilis* est de 29,20 %, ce taux est supérieur à celui obtenu par Skerget *et al.* (2005) qui est de 24.6 %.

Sweetie *et al.* (2007) ont obtenu un rendement d'extraction de 61.5%; (m/m) pour l'espèce *Mentha spicata* L., ce résultat est plus supérieur à ce lui obtenu qui est de 40 % (Hinneburg *et al.*, 2006 ; Kosar *et al.*, 2005).

Shyamala *et al.* (2005) ont trouvé un rendement de 27,48 (%) pour l'espèce *C. sativum* L., ce rendement est inférieur à celui trouvé qui est de 35%, ceci peut être expliqué par la différence de la période de récolte et la méthode d'extraction.

Le rendement d'extraction de *P. sativum* L. rapporté par Hinneburg *et al.* (2006) se rapproche de celui trouvé dans notre étude (30%).

La différence des résultats obtenus avec ceux des différents auteurs ne pourrait s'expliquer que, par l'influence de plusieurs facteurs, en outre de ceux déjà cité

précédemment, on pourra rajouté : l'origine géographique de la plante, et le stade de maturité des feuilles (Naczki et Shahidi, 2004).

## II. Polyphénols

### II. 1. Polyphénols totaux

Les différents dosages opérés ont mis en certitude l'existence de polyphénols totaux, de polyphénols polaires, de tanins et de flavonoïdes dans les cinq extraits de plantes étudiées, toutefois avec des proportions variables.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de plantes analysés sont présentés dans la figure 17. Les résultats du calcul de la concentration et l'écart type correspondant sont exprimés en mg Equivalent Acide Gallique par g de Matière Sèche (mg EAG/g MS) (annexe 5).

Les teneurs en polyphénols totaux des différentes plantes présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) mais à part pour *P. sativum* L. et *A. gravelons* L. Ces teneurs varient de 70,48 mg EAG/g à 354,89 mg EAG/g de MS.

Les teneurs en composés phénoliques totaux, polaires et apolaires dans les extraits de plantes sont illustrées dans la figure suivante :

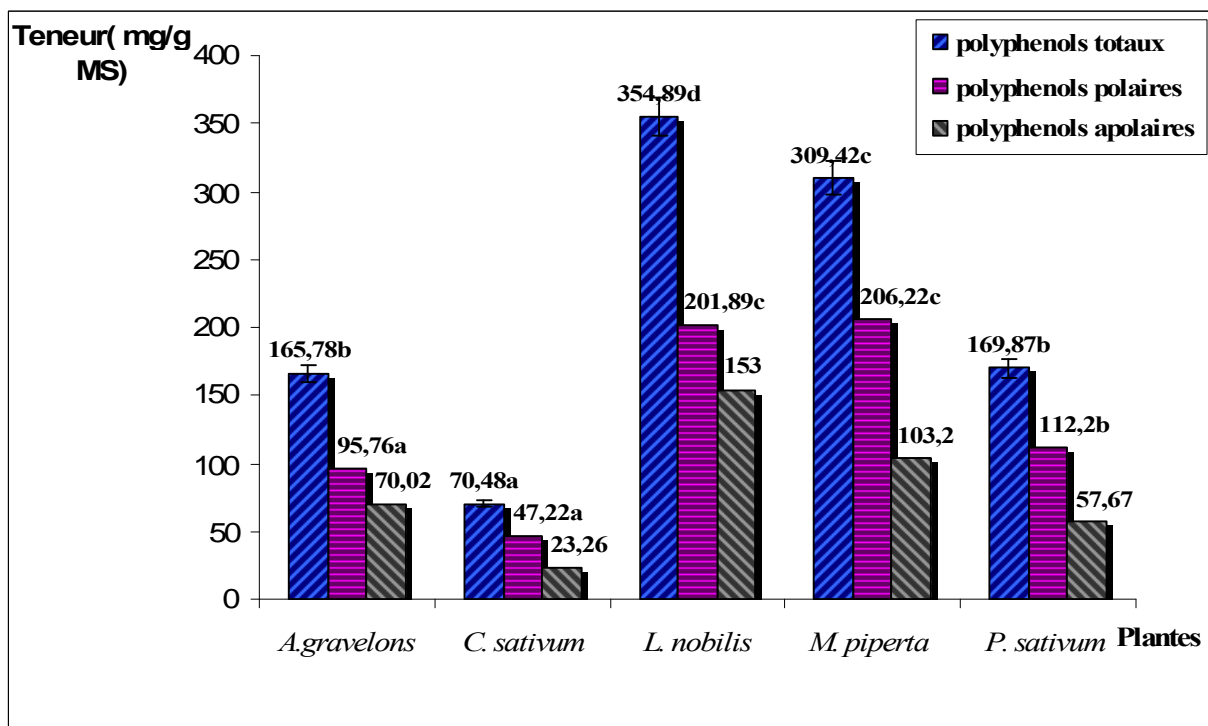


Figure 17 : Composés phénoliques totaux, polaires et apolaires des extraits de plantes.

Les teneurs les plus importantes de polyphénols totaux sont retrouvées chez *L. nobilis* L. (354,89 mg EAG/g de MS) et *M. piperita* L. (309,42 mg EAG/g de MS). Des teneurs plus ou moins faibles sont obtenues chez *P. sativum* L. (169,87 mg EAG/g de MS) et *A. graveolens* L. (165,78 mg EAG/g de MS) et la teneur la plus faible a été observée chez *C. sativum* L. (70,48 mg EAG/g de MS).

Les investigations faites sur l'espèce *Mentha piperita* L. sont nombreuses, les résultats sont différents d'une à l'autre, on peut invoqué quelques unes : Sweetie *et al.* (2007) ont obtenu des teneurs qui oscillent entre 128 à 230 mg EAG/g de matière sèche de *Mentha piperita* L.

Capecka *et al.* (2005) ont récupéré 2580 mg EAG /100g MS pour l'espèce *M. piperita* L., un résultat différent de celui trouvé, ceci est due à la différence de la méthode d'extraction et de solvant utilisé.

Katalinic *et al.* (2007) et Ravindra *et al.* (2007) ont retrouvés une teneur en composés polyphénoliques pour la même espèce (*M. piperita* L.) de 706 mg catéchine /g de MS valeur supérieure à celle trouvée dans la présente étude, tandis que Ivanova *et al.* (2005), eux ont trouvés le même résultat pour l'espèce *M. piperita* L. qui est de 310.78 mg GAE/g de matière sèche.

Pour *P. sativum* L. et *C. sativum* L. les teneurs en composés phénoliques obtenues respectivement par Wong *et al.* (2006) sont de  $152 \pm 9.6$  mg acide caféique /100 g de poids frais et  $110 \pm 9.96$  mg acide caféique /100 g de poids frais des feuilles de plante après extraction au méthanol 70%.

Hinneburg *et al.* (2006) ont rapporté des teneurs en composés phénoliques de *P. sativum* L. et de *L. nobilis* L. respectivement de 29.2 mg EAG /g et 92 mg EAG/g sont des quantités moindres à celles retrouvées dans notre étude.

L'étude réalisée par Shyamala *et al.* (2005), sur l'espèce *C. sativum* L. indique des teneurs de 22 mg EAT/g de matière sèche, qui est une teneur plus faible que celle retrouvée dans la présente étude.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que les plantes étudiées sont assez riches en composés phénoliques comparativement aux matériaux végétaux et aux plantes médicinales qui ont faits l'objet de plusieurs investigations par d'autres auteurs.

La teneur en principes actifs et particulièrement en quantité de polyphénols totaux des plantes dépendent de plusieurs facteurs : la nature des méthodes d'extraction et d'analyse employées, la nature de standard utilisé, l'origine géographique (nature de terrain, nature du climat, de l'altitude), la période de cueillette choisie, en effet dans plusieurs cas on adopte de préférence les plantes de certains pays ou de certaines régions, connus pour leurs grande efficacité (valnet *et al.*, 1992).

Les conditions de stockage peuvent aussi avoir une influence sur l'oxydation et la dégradation des polyphénols contenus dans l'extrait de plante, pour cela doivent être continuellement en surveillance (valnet *et al.*, 1992).

## **II. 2. Polyphénols polaires et apolaires**

Les résultats du dosage des polyphénols polaires et apolaires des plantes analysées sont présentés dans la figure 17, ils varient entre 47,22 mg EAG /g MS et 206,22 mg EAG /g MS et de 23,26 mg EAG /g MS à 153 mg EAG /g MS respectivement. Les résultats obtenus montrent que toutes les plantes étudiées ont des teneurs plus élevées de polyphénols polaires par rapport aux polyphénols apolaires, un rapport approximativement de 50%, ceci est dû probablement à la nature chimique des extraits de plantes étudiées et à nature de solvant utilisé.

Les résultats obtenus par Turkmen *et al.* (2006) indiquent que la polarité de solvant d'extraction augmente significativement le contenu des polyphénols polaires dans l'extrait. En plus, les polyphénols doivent leurs activités et leurs solubilités comme leur nom l'indique, à un très grand nombre de résidus hydroxyles, ces derniers ayant un caractère hydrophile et polaire, sont extractibles par des solvants polaires tels que le méthanol, d'ailleurs Caillet *et al.* 2006 réaffirme que les composés phénoliques les plus polyhydroxylés détiennent la polarité la plus élevée.

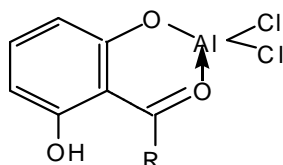
La polarité des flavonoïdes dépend de la nature des groupements se trouvant sur les noyaux phénoliques, et essentiellement du nombre de groupements hydroxyles, la glycosilation influence également fortement leur polarité (Caillet *et al.*, 2006 ).

La nature chimique du solvant utilisé sélectionne des gammes de constituants actifs, présentant la même polarité, il existe une grande affinité entre le solvant et le soluté à extraire, toutefois d'autres solvants à caractère apolaires pourront être utilisé

pour l'extraction de la gamme des composés à caractère hydrophobes tels que les huiles essentielles, la chlorophylle, les caroténoïdes (éther de pétrole, le chloroforme) (Koller, 2005). La méthode utilisée pour l'extraction des polyphénols polaires offre un système qui permet l'augmentation de la surface inter-physique ou/et par la création de conditions hydrodynamiques (centrifugation) favorables accédant à une bonne dispersion des deux phases permettant ainsi la séquestration des polyphénols polaires recherchés (Koller, 2005).

### II. 3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes et représentent un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques (Waridel, 2003). Après l'ajout de la solution de Chlorure d'Aluminium ( $AlCl_3$ ), une couleur jaunâtre se forme. Cette coloration est due à la formation du complexe entre le Chlorure d'Aluminium et les flavonoïdes; ceci se traduit par le fait que le métal (Al) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968). La formule du complexe entre le Chlorure d'Aluminium et un composé phénolique O-hydroxycarbonylé est présentée comme suite :



La teneur en flavonoïdes dans les extraits de plantes est exprimée en mg Equivalent Quercétine par g de Matière Sèche (mg EQ/g MS), qui est représentée dans la figure 18.

La quantité la plus élevée en flavonoïdes est repérée chez *P. sativum* L. (79,01 mg EQ/g MS) suivie par *M. piperita* L. (49,17 mg EQ /g MS), *L. nobilis* L. (48,64 mg/g MS), et *A. gravelons* (48,1 mg EQ/g MS), la teneur la plus faible est celle de *C. sativum* L. (38,84 mg EQ /g MS). Ces teneurs diffèrent significativement d'une espèce à une autre ( $p < 0.05$ ), sauf pour les deux espèces *M. piperita* L. et *L. nobilis* L. qui ne présentent pas de différence significative.

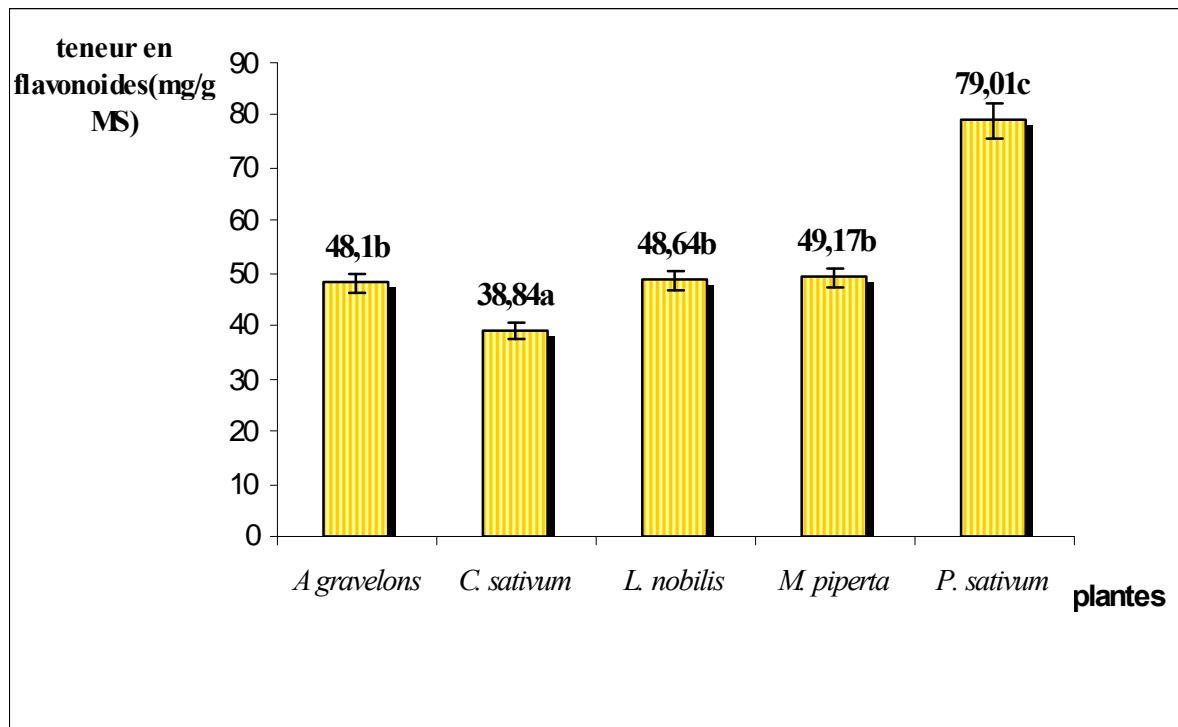


Figure 18 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de plantes.

La teneur en flavonoïdes totale décelée chez *Mentha spicata* L. rapportée par Sweetie *et al.* (2007) est de  $13.5 \pm 1.38$  mg équivalent catéchine /g MS parmi les flavonoïdes identifiés la thymonine, la diosmetine, l'apigénine, et la reticuline, cette teneur est différente de celle retrouvée (49,17 mg EQ /g MS), ceci peut être due à la variation de l'espèce, et aussi à la méthode de dosage utilisée.

Le travail réalisé par Wangensteen *et al.* (2004) confirme en grande partie le résultat trouvé pour l'espèce *C. sativum*, en effet cette plante contient une quantité non négligeable en flavonoïdes.

Simic *et al.* (2003) ont isolé à partir des feuilles de laurier un ensemble de flavonoïdes, ce qui réaffirme la teneur retrouvée (48,64 mg EQ /g MS), dévoilant ainsi que cette espèce *Laurus nobilis* L. peut être considérée comme une source importante de flavonoïdes, similairement Skerget *et al.* (2005) a certifié un contenu de flavonoïdes qui est de 80.1 mg/kg MS, une teneur en quercétine de 31.90 mg/kg, et une teneur en kaempferol de 48.22 (mg/kg MS).

Les flavones : l'apigénine et la lutéoline sont largement répandus dans les herbes aromatiques comme le persil, le thym, le romarin et le céleri. Pour ce dernier, la

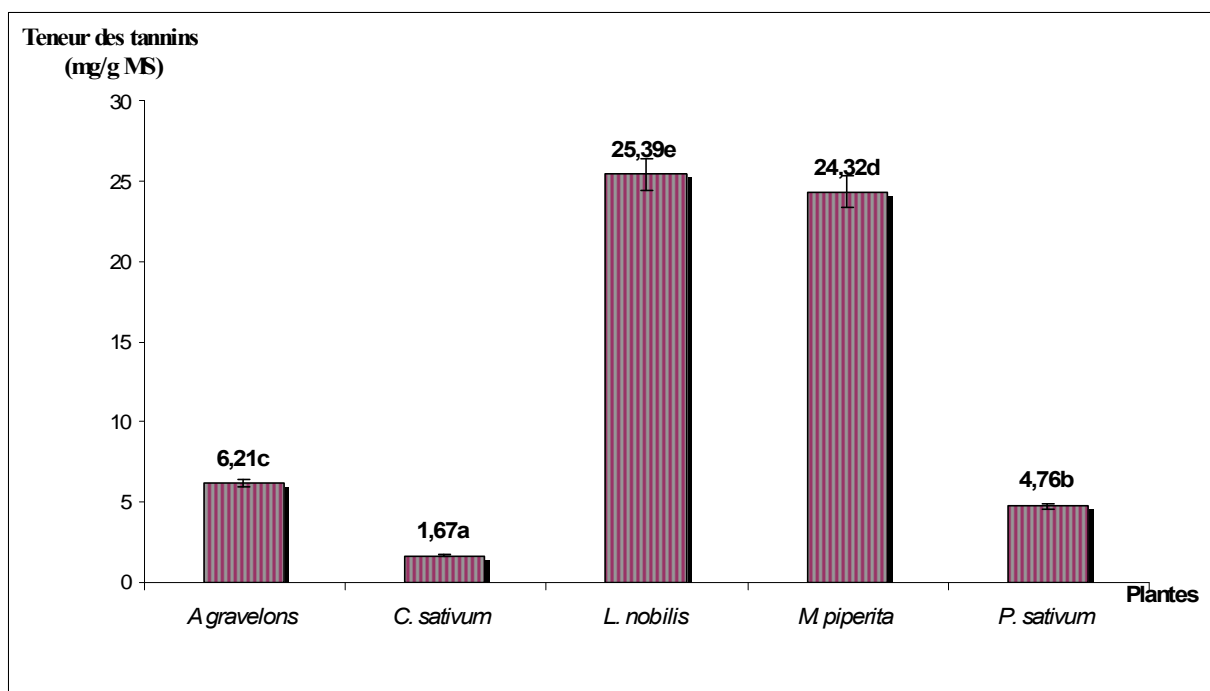
concentration de ces deux flavones dans les feuilles est nettement supérieure à celles présentes dans les tiges (Marfak, 2003).

Lugasi *et al.* (2003) a quantifié chez l'espèce *P. sativum* L. une teneur en flavonoïdes de 80.8 mgQ/Kg, et une teneur de 40,28 mgQ/Kg pour l'espèce *A. gravelons* L.

Les flavonoïdes se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) (Diallo *et al.*, 2004 ; Hadi, 2004). En outre ces composés sont largement influencés par les facteurs génétiques, les conditions environnementales, le degré de maturation, et leurs conditions de stockage. En définitive, les flavonoïdes sont des composés ubiquitaires dans le monde végétal (Anton, 2003).

#### II. 4. Tanins

Les résultats du dosage des tanins ont révélés la richesse des plantes étudiées en ces composés, la variation de cette teneur entre les différentes plantes est significative (figure 19).



**Figure 19** : Teneurs en tanins des extraits de plantes.

Des teneurs importantes ont été trouvées pour *L. nobilis* L. et *M. piperita* L. (25,39 mg EAT/g MS, 24,32 mg EAT/g MS), les teneurs relativement faibles sont



données par *A. gravelons* L. et *P. sativum* L. (6,21mg EAT /g MS, 4,76 mg EAT /g MS). La quantité de tanins présente dans les feuilles de *C. sativum* L. est très faible est de l'ordre de 1,67mg EAT /g MS, ces teneurs présentent des différences significatives entre les différents échantillons ( $p < 0.05$ ).

Très peu de travaux ont été effectués sur les tanins des différentes plantes (feuilles) étudiées.

Selon Hajet *et al.* (2008) la teneur en tanins de *M. piperita* L. est de 1269 g EAT/Kg MS, et d'après Skerget *et al.* (2005), la quantité de tanins des extraits de feuilles de *L. nobilis* L. est de 29.9 g EAT/Kg MS. Cette valeur est largement inférieure à celle trouvée dans le présent travail. Ces différences sont probablement dû à la différence dans les méthodes d'analyses employées, les standards utilisés, mais aussi à d'autres facteurs qu'on peut résumer comme suit :

- ◆ La famille : très réponsus chez la plupart des gymnospermes et les angiospermes ligneuses, moins chez les herbacées (Peronny, 2005).
- ◆ L'espèce, et l'âge de la plante (Mehanso *et al.*, 1987).
- ◆ Les caractéristiques du site de croissance (l'acidité augmente la teneur de ces composés) (Makkar *et al.*, 1991 ; McKey *et al.*, 1978).
- ◆ La saison : teneur élevée durant l'été (température élevée) (Mehanso *et al.*, 1987 ; Kelman et Tanner 1990).
- ◆ Les conditions d'ensoleillements (l'intensité lumineuse) (Peronny, 2005).
- ◆ Le degré de maturité des feuilles (Feeny et Bostock, 1968).
- ◆ Les facteurs physiologiques : les nutriments disponibles dans le sol ont une grande influence, leur réduction entraînaient une production accrue de tanins, quant à la disponibilité des glucides est un élément déterminant pour la construction de composés phénoliques de défense des plantes, et peut déterminer des différences de teneurs en tanins (Peronny, 2005).

### **III. Etude des activités biologiques**

#### **III. 1. Activité antioxydante**

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante, certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme un

indicateur significatif de son potentiel antioxydant, d'autres reposent sur la mesure de la capacité d'une substance à piéger les composés radicalaires (Javanmardi *et al.*, 2003 ; Marc *et al.*, 2003).

Dans la présente étude, l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des plantes étudiées a été déterminée en utilisant deux méthodes différentes :

- La première est l'évaluation du pouvoir antiradicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation du radical DPPH<sup>•</sup> par les antioxydants présents dans les extraits méthanoliques des plantes étudiées.
- La deuxième méthode par l'estimation du pouvoir réducteur, qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques (fer ferrique en fer ferreux).

Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, il n'existe pas de test *in vitro* de référence pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Pour cela, la combinaison de différents tests est un indicateur de la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (Amic *et al.*, 2003).

### **III. 1. 1. Le pouvoir antiradicalaire**

Le test au DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) choisi dans cette étude, est basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH<sup>•</sup> par une molécule antiradicalaire, ce qui entraîne la décoloration de ce dernier (Molyneux, 2004).

Le test au DPPH est rapide et commode à mettre en œuvre, s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules testées. Ce test consiste à mettre le radical DPPH<sup>•</sup> en présence de molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. La forme réduite n'absorbe plus à 517 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (Molyneux, 2004).

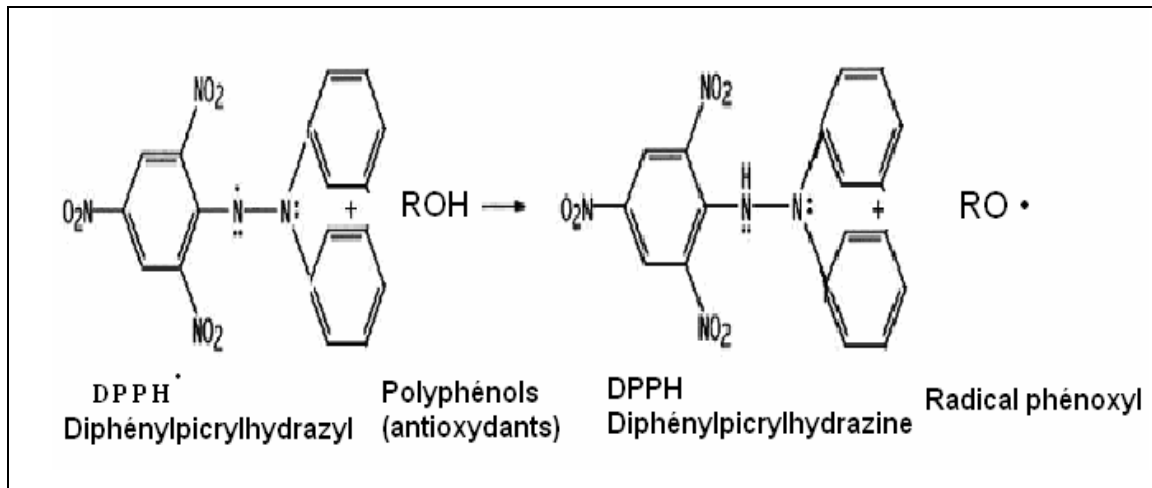


Figure 20 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par les polyphénols (Amic *et al.*, 2003).

### III. 1. 1. Pouvoir antiradicalaire des plantes utilisées

Les résultats illustrés dans la figure 21 montrent que les activités antiradicalaires des plantes étudiées sont assez importantes.

L'étude statistique (ANOVA, test LSD) indique que l'espèce *P. sativum* L. présente la plus grande activité antiradicalaire avec  $68,77 \pm 0,10$  % suivie par *L. nobilis* L. et *M. piperita* L. avec  $67,03 \pm 0,1$  % et  $64,91 \pm 0,12$ % respectivement qui ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) ; ces trois plantes ont un pouvoir antiradicalaire important comparé à *A. graveolens* L. et *C. sativum* L. qui ne réduisent que  $33,22 \pm 0,25$ % et  $29,07 \pm 0,20$  % de radical libre DPPH<sup>•</sup> respectivement.

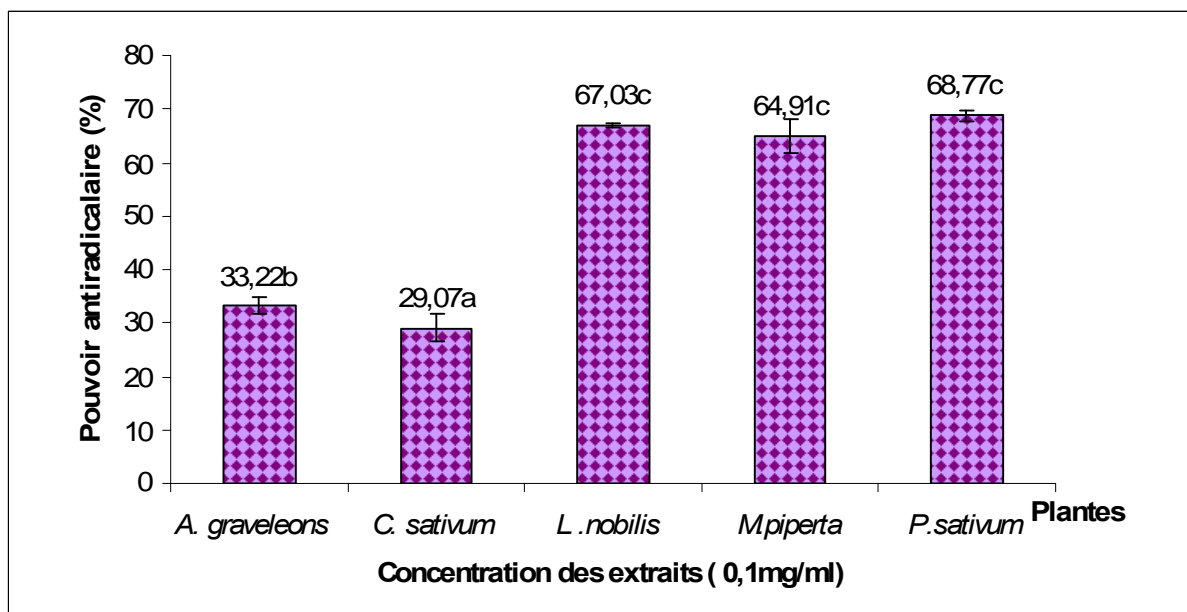


Figure 21 : Pouvoir antiradicalaire des extraits méthanoliques des plantes étudiées.

Une étude réalisée par Al-Mamary *et al.* (2002) sur les extraits méthanoliques de deux espèces : *C. sativum* L. et *P. sativum* L. a montré que l'espèce *C. sativum* L. a un meilleur pouvoir antiradicalaire estimé à (98.65±0.04%), celui de *P. sativum* L. (95.12±2.93%), Les résultats de cet auteur confirme en partie les résultats trouvés dans la présente étude, un pourcentage d'inhibition de 55% (167 µg/ml) est trouvé pour l'espèce *C. sativum* L., les composés responsables de cette activité sont les Flavonoïdes, les triterpenoides, et les acides phénoliques (De almeida melo *et al.*, 2005 ; Sweetie *et al.*, 2007 ; Wangensteen *et al.*, 2004).

Larrosa *et al.* (2002) ; Vina *et al.* (2006) ont étudié l'effet antiradicalaire de l'espèce *A. graveolens* sur le radical stable DPPH• le pourcentage d'inhibition obtenu permet de réduire plus de 30% de l'extrait éthanolique.

Ferreira *et al.* (2006) ont testé l'effet antiradicalaire de *L. nobilis* L., et *Mentha suaveolens* L., ces deux plantes ont présenté des pourcentages d'inhibition importants de 67% et 98% respectivement, ce qui est en corrélation avec les résultats trouvés, les constituants majoritaires responsables de cette activité, isolés à partir des extraits étudiés sont les flavonols glycosides et les isoquercitrines.

D'autres travaux ont rapporté que les extraits des espèces de menthe poivrée contiennent des acides phénoliques (l'acide rosmarinique et l'acide caféique), des flavonoïdes (l'eriocitrine, la luteoline glucoside), ces divers composés phénoliques ont été impliqués dans le pouvoir antiradicalaire avec un pourcentage de 72,2%±0,50.

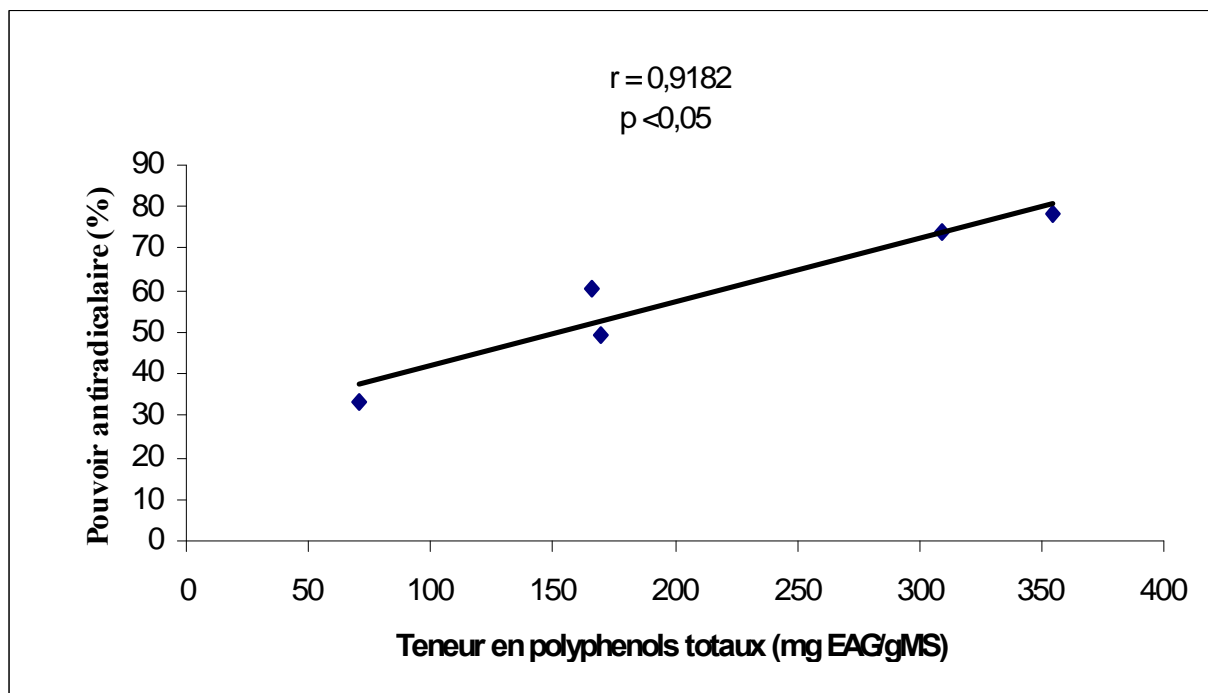
Le pouvoir réducteur de *P. sativum* L. est attribué essentiellement à sa contenance en apigénine, et celui de *L. nobilis* L. à la quercétine, à l'isoquercitrine, et au kaempferol (Hinneburg *et al.*, 2006 ; Skerget *et al.*, 2005).

Le composé le plus important de la famille des Lamiacées est l'acide rosmarinique, qui montre un potentiel élevé d'inhibition de radical DPPH, cette capacité est lié a la présence de quatre groupes hydroxyles (Matkowski *et al.*, 2006).

La menthe poivrée contient des quantités élevées (30µg/gMS) d'acide rosmarinique, d'autres acides participent également à cette activité tels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, et l'acide ferulique, contribuant ainsi à la neutralisation de radical libre DPPH• (Capecka *et al.*, 2005), d'autres composés phénoliques sont impliqués dans cette activité et qui sont des flavonoïdes (la

quercétine et le kaempferol, l'eriocitrine), et des flavonoïdes glycosides hydroxylés en position 3 ou 5 (Arabshahi *et al.*, 2005).

Ces résultats sont confirmés par l'étude de corrélation, en effet un coefficient de corrélation linéaire élevé a été obtenu entre la teneur en composés phénoliques totaux et le pouvoir antiradicalaire ( $r=0,91$ ), des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs études réalisées sur les plantes aromatiques et médicinales (Dorman *et al.*, 2006 ; Huang *et al.*, 2004 ; Javanmardi *et al.*, 2003 ; Kosar *et al.*, 2005 ; Miliauskas *et al.*, 2004 ; Sultana *et al.*, 2007 ; Wangenstein *et al.*, 2004).



**Figure 22** : corrélation entre les teneurs en composés phénoliques totaux et le pouvoir antiradicalaire.

Des résultats semblables ont aussi été constatés en utilisant d'autres méthodes de mesure de l'activité antioxydante. En effet en mesurant l'activité antioxydante de 112 espèces de plantes chinoises par la méthode TEAC, Cai *et al.* (2004) ont obtenu des coefficients de corrélation linéaire élevés pour les extraits aqueux, et méthanoliques entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante allant respectivement de 0.96 à 0.95 montrant ainsi que les antioxydants responsables en grande partie de l'activité antioxydante sont les composés phénoliques.

De même Surveswaran *et al.* (2007), en évaluant l'activité antioxydante de 133 plantes médicinales indiennes par plusieurs méthodes : ABTS, DPPH et FRAP, des

coefficients de corrélation linéaire importants entre la teneur en composés phénoliques totaux et leur pouvoir antiradicalaire sont obtenus qui varient entre (0.89 et 0.97), l'ensemble de ces résultats réaffirment vraisemblablement que les polyphénols sont les antioxydants dominants dans les extraits de plantes testées.

### III. 1. 1. 2. Effet de la concentration d'extraits sur le pouvoir antiradicalaire

Dans le but de mieux discerner l'effet de la variation de la concentration des extraits méthanoliques de plantes étudiées sur le pouvoir antiradicalaire, une augmentation de la concentration de ces derniers a été entreprise.

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 23, exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH<sup>•</sup>.

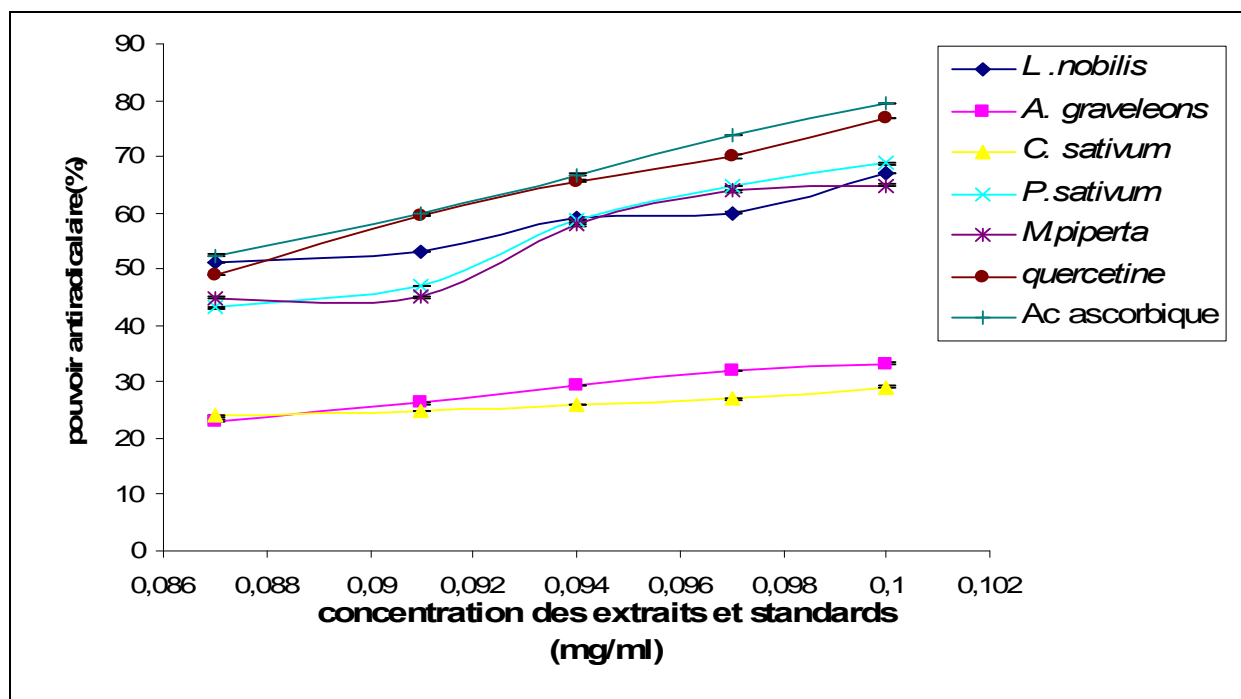


Figure 23 : Pouvoir antiradicalaire des différentes concentrations des extraits de plantes chaque valeur est représentée par la moyenne  $\pm$  écart type (n=3).

D'après les courbes tracées le pouvoir antiradicalaire est proportionnel, augmente avec l'élévation de la concentration des extraits et des antioxydants synthétiques (quercétine, acide ascorbique), les pouvoirs antiradicalaires les plus élevés sont obtenus avec la quercétine et l'acide ascorbique, ceci se traduit par la diminution de l'absorbance de l'échantillon testé, toutes les augmentations sont significatives entre les concentrations testées ( $p < 0.05$ ).

Le renforcement du pouvoir inhibiteur du radical DPPH• s'explique par le fait que sa diminution ou son accroissement dépendent directement de la concentration des antioxydants existants dans les échantillons testés. De ce fait l'inhibition de radicaux libres DPPH• augmente avec l'élévation de la teneur en antioxydants (composés phénoliques) (Gülçin *et al.*, 2005).

Pour des concentrations allant de 0,087 jusqu'à 0,097mg/ml, toutes les plantes présentent une élévation de pourcentage de réduction du radical DPPH•, bien que à partir de la concentration de 0,097 mg/ml les plantes *M. piperita* L. et *P. sativum* L. accèdent approximativement à la réduction totale des radicaux DPPH•, ce qui signifie que à ces concentrations les échantillons testés contiennent suffisamment d'antioxydants pour réduire la quasi-totalité de radicaux libres DPPH•.

Tandis que pour les autres espèces (*L. nobilis* L., *C. sativum* L., *A. graveolens* L.) la neutralisation de la totalité des radicaux libres DPPH• nécessitant des concentrations d'extraits de plantes assez importantes.

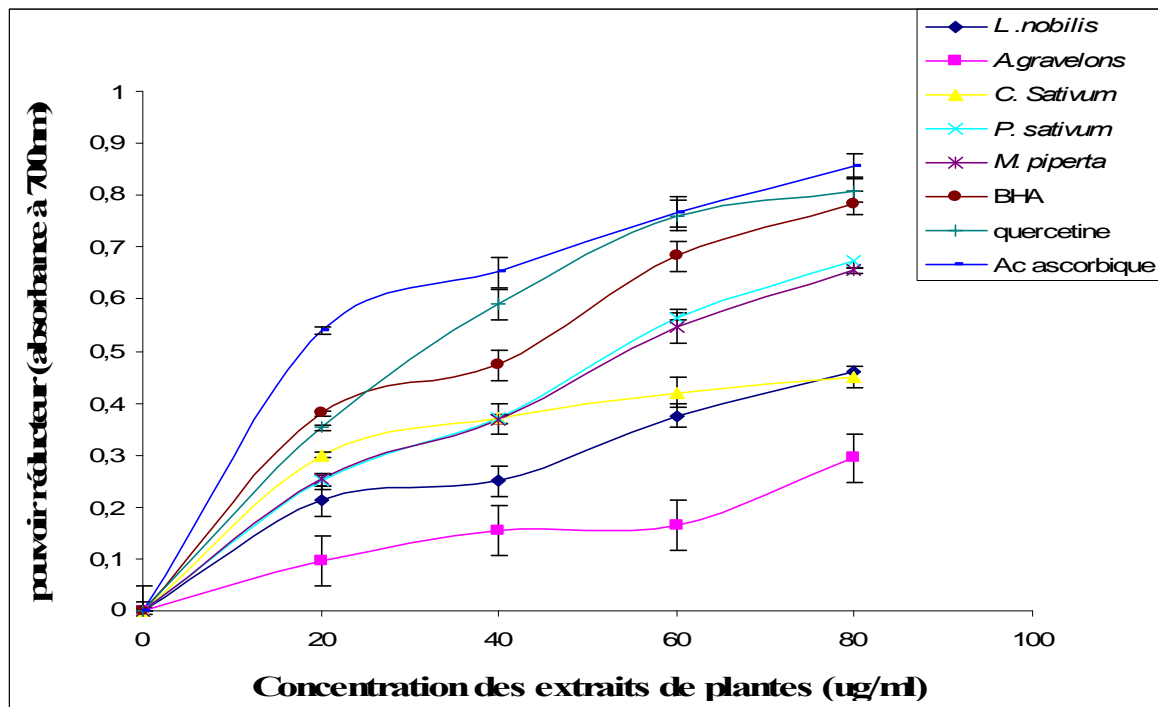
### **III. 1. 2. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est souvent employé comme indicateur de la capacité d'un composé à céder un électron, de nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant qu'est un mécanisme important qui examine l'action antioxydante des composés phénoliques. Il est aussi utilisé comme test important de l'activité antioxydante des plantes médicinales (Gülçin *et al.*, 2005 ; Wang *et al.*, 2008).

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydante de l'échantillon testé, elle est basée sur la réduction du Fer (III) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en Fer(II) (Chu *et al.*, 2000).

La révélation du pouvoir réducteur d'un échantillon est basée sur le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue verdâtre dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque échantillon. Le pouvoir réducteur dépend essentiellement de la quantité de réducteurs présents dans le milieu testé, ceci se traduit par l'augmentation de l'absorbance au fur et à mesure que cette quantité

s'élève, qu'est estimée par spectrophotométrie à 700 nm (Blázovics *et al.*, 2003 ; Chu *et al.*, 2000).



**Figure 24 :** Pouvoir réducteur des différentes concentrations des extraits de plantes. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type (n=3).

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur est fonction de la concentration du BHA, quercétine, acide ascorbique et d'extrait de plante pour les concentrations allant de 20 à 80  $\mu\text{g/ml}$ .

L'analyse des résultats dévoile que le potentiel réducteur des extraits de plantes suit l'ordre croissant suivant : acide ascorbique > quercétine > BHA > *P. sativum* L. > *M. piperita* L. > *C. sativum* L. > *L. nobilis* L. > *A. gravelons* L.

A la concentration de 80  $\mu\text{g/ml}$ , le pouvoir réducteur de *Petroselinum sativum* L. est nettement supérieur à celui des autres plantes alors que *A. gravelons* ne présente qu'un très faible pouvoir réducteur. Ceci peut être expliqué par la richesse de la plante *P. sativum* L. en flavonoïdes qui contribuent fortement dans le pouvoir réducteur, vue leur aptitude à transférer des électrons et des protons aux radicaux libres existants dans le milieu réactionnel, cependant *A. gravelons* L. l'étude phytochimique a révélée de petite quantité de flavonoïdes, ce qui lui confère un faible pouvoir réducteur (Hinneburg *et al.*, 2006 ; Skerget *et al.*, 2005).



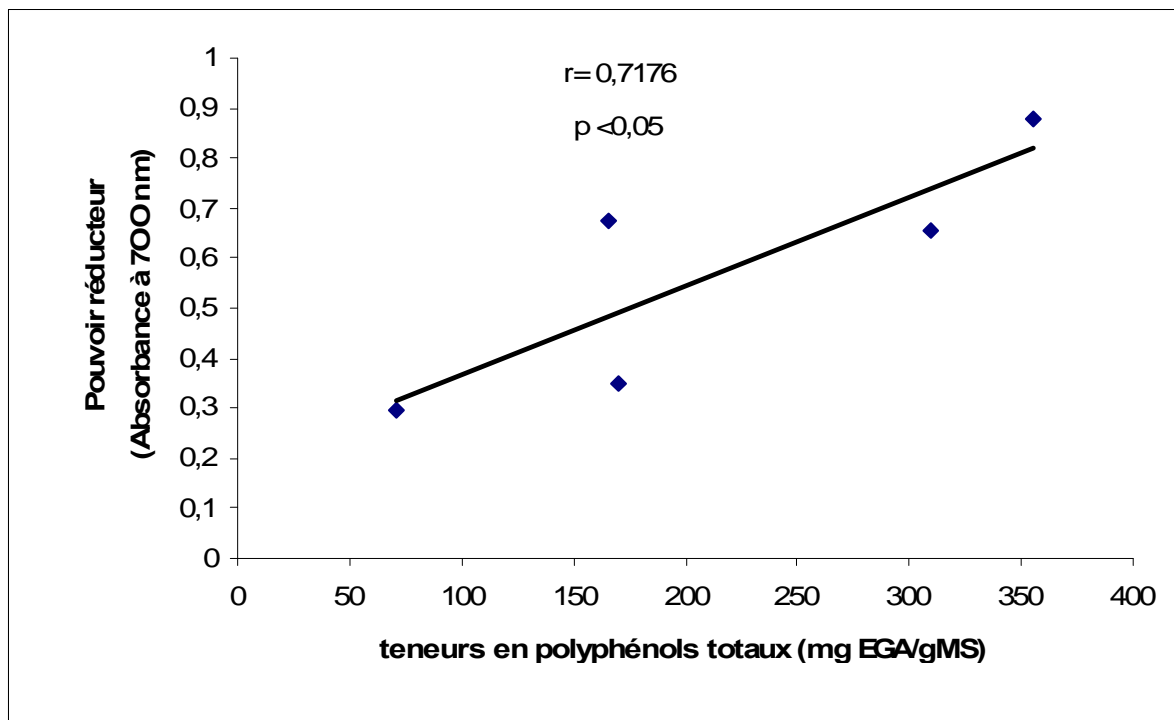
Le pouvoir réducteur de *M. piperita* L. testé par Katalinic *et al.*, (2006) confirme le résultat trouvé, en outre ils rapportent que l'augmentation du pouvoir réducteur est fortement influencé par la position des groupements hydroxyles (position *ortho*- ou *para*-).

Les propriétés réductrices de *Mentha piperita* L. sont liées à sa richesse en acides phénoliques (l'acide rosamarinique, acide caféique) et l'existence d'autres composés tels que l' $\alpha$ -tocopherol (Samarth *et al.*, 2007).

L'étude faite par Hinneburg *et al.* (2006) a obtenu des résultats similaires à ceux obtenus dans le présent travail, pour les deux espèces : *P. sativum* L. et *L. nobilis* L.

Le pouvoir réducteur de *C. sativum* L. obtenu par Al-Mofleh *et al.* (2006) réaffirme le résultat obtenu par la présente étude, ces auteurs attribuent les propriétés réductrices de cette plante à sa teneur considérable en composés phénoliques, et plus précisément à sa contenance en flavonoïdes mais aussi à d'autres composés : coumarines, linalool, catéchine, terpenoïdes et à des acides phénoliques tels que l'acide caféique.

Un coefficient de corrélation linéaire élevé est obtenu entre les teneurs en polyphénols totaux et leurs pouvoir réducteur ( $r=0,71$ ) (Figure 25).



**Figure 25 :** corrélation entre le pouvoir réducteur et les teneurs en composés phénoliques totaux.

En effet, les composés phénoliques semblent contribués ; de manière très importante au potentiel réducteur des extraits de plantes (Huang *et al.*, 2004). Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs études :

Les méthodes utilisées dans ces études afin de mesurer le pouvoir réducteur diffèrent de celles employées dans la présente étude, quoique les résultats se rapprochent, les coefficients de corrélation obtenus sont compris entre 0.745 et 0.961 (Hinneburg *et al.*, 2006 ; Sultana *et al.*, 2007).

Dans l'étude de Pegg *et al.* (2004) ont obtenu un coefficient de corrélation linéaire entre les concentrations en composés phénoliques et le pouvoir réducteur de plusieurs plantes (0.945 et 0.961).

Des résultats similaires ont été rapportés par les travaux d'Orak *et al.* (2007), qui ont obtenu un coefficient de corrélation linéaire de 0,86 entre les concentrations en composés phénoliques et le pouvoir réducteur. Aussi Davalos *et al.* (2005) ont trouvé une corrélation entre les composés phénoliques et le pouvoir réducteur avec des coefficients de corrélation linéaires de plusieurs matériaux végétaux entre 0,92 et 0,99.

La plante constitue une source importante d'antioxydants. Les chercheurs s'intéressent en effet très particulièrement aux composés naturels aux propriétés antioxydantes (Potterat, 1997). Les mécanismes d'action sont nombreux : captage de l'oxygène singulet, désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, réduction des radicaux ou peroxydes, complexation d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

L'activité antioxydante de ces extraits pourrait s'expliquer par leur richesse en substances polyphénoliques. De nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes des tanins et surtout des flavonoïdes (Ohnishi *et al.*, 1994).

Le contenu en composés phénoliques diffère d'une plante à une autre selon le genre, la famille, l'espèce, et même la sous espèce, également la qualité de ces composés affecte autant l'activité antioxydante comme la présence des acides phénoliques ou les flavonoïdes ou les tannins (Cai *et al.*, 2005 ; Rehaba *et al.*, 2002), d'ailleurs dans la présente étude l'espèce *Petroselinum sativum* L. a montrée la meilleure activité antioxydante malgré que l'étude phytochimique a révélée que

l'espèce *L. nobilis* L. est la plus riche en ces composés, démontrant ainsi que la qualité de ces composés reste le point le plus déterminant dans cette activité.

La divergence des résultats de pouvoir antioxydant entre les échantillons testés peut être attribué à plusieurs assises :

Résulte essentiellement de la composition chimique des plantes testées ;

L'activité antioxydante des composés phénoliques dépend essentiellement du nombre et de la position de groupements hydroxyles (OH), augmente avec l'augmentation de nombre de ces groupements. (Cai *et al.*, 2005) ;

L'introduction de groupements hydroxyles au niveau de la position 5,7 dans le noyau A induit une augmentation de l'activité antioxydante (Lugasi *et al.*, 2003).

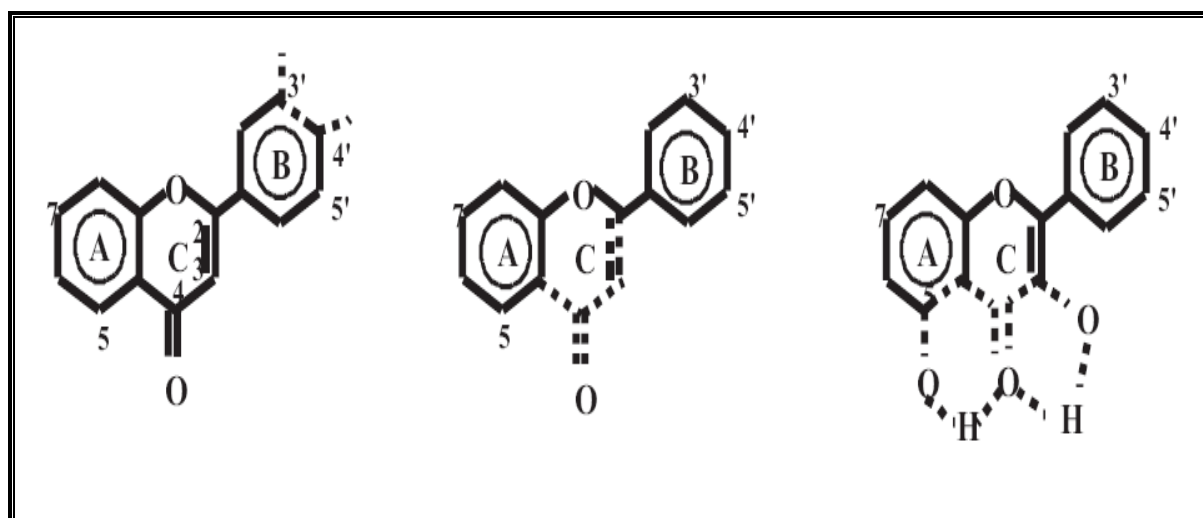
L'activité antiradicalaire la plus importante des flavonoïdes nécessite :

- Une structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ;

- La double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxyl ;

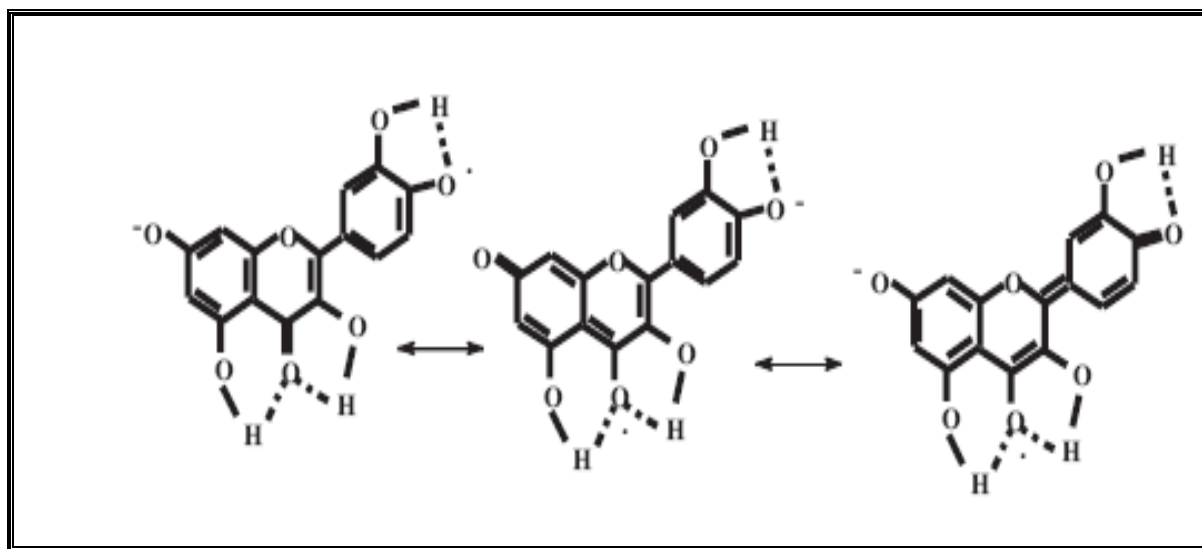
- Les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (Marfak, 2003) (Figure 26) ;

- Le degré de glycosylation des flavonoïdes influence le pouvoir antioxydant en le diminuant de manière significative. Les flavonoïdes glycosylés ont des activités inférieures à celles des composés non glycosylés. Par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine (Cai *et al.*, 2005).



**Figure 26** : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (Amic *et al.*, 2003).

La quercétine en particulier satisfait à tous les critères déjà cité antérieurement et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes, comporte cinq fonctions hydroxyles susceptibles d'être déshydrogénées (abstraction de H), déprotonées, ou oxydées au cours des mécanismes biologiques permet une délocalisation des électrons offrant une résonance et une structure stable. Le nombre relativement important de ces fonctions oxygénées est à l'origine d'un grand nombre de formes activées différentes telles que des espèces semiquinones, quinones, etc.(Figure 27) (Hadi *et al.*, 2004 ; Thouy *et al.*, 2008).



**Figure 27 :** Structure stable de la résonance de la quercétine (Lugasi *et al.*, 2003).

L'activité antiradicalaire des acides phénoliques augmente significativement avec la présence de groupements méthoxyl.

Tandis que l'activité antioxydante des tanins s'élève avec l'augmentation de groupements galloyls et ortho-dihydroxy qui renforce de manière significative cette activité, de même avec l'augmentation de leur poids moléculaire (Cai *et al.*, 2005).

Le choix de solvant d'extraction est aussi déterminant, pour la qualité d'antioxydants extraits. Des antioxydants polaires tels que les acides et les flavonoïdes glycosylés sont généralement extraits avec des solvants polaires (eau, alcools ou un mélange eau /alcool). Pour les antioxydants tels que les aglycones de quelques flavonoïdes et de la plupart des caroténoïdes, des solvants non polaires sont préconisés (Ferreira *et al.*, 2006).

### III. 1. 3. Relation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur

Plusieurs tests évaluant l'activité antioxydante ont été rapportés par la littérature. Les deux tests employés dans la présente étude sont l'activité anti-radicalaire en employant le radical libre stable DPPH, tandis que l'autre test basé sur le pouvoir réducteur des échantillons, reposé sur la réaction chimique de réduction du Fer(III) en Fer(II). Ces deux tests se reposent sur les propriétés redox des antioxydants, en effet les antioxydants utilisent deux mécanismes d'action contre les radicaux libres, qui sont les transferts d'atome d'hydrogène et d'électrons, respectivement.

Les coefficients de corrélation obtenus reflètent l'existence d'une très bonne corrélation entre l'activité anti-radicalaire et le pouvoir réducteur ( $r=0,98$ ), ce qui peut être expliqué par la richesse des extraits étudiés en antioxydants ayant des propriétés réductrices et antiradicalaire (Figure.28).

De nombreux travaux effectués dans le but d'estimer l'activité antioxydante de plusieurs matériaux végétaux tels que les fruits et surtout les plantes médicinales, en utilisant différents tests tels que TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), le test FRAP et autres, l'ensemble des résultats obtenus ont indiqué des coefficients de corrélation importants entre le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur (Gerova *et al.*, 2005).

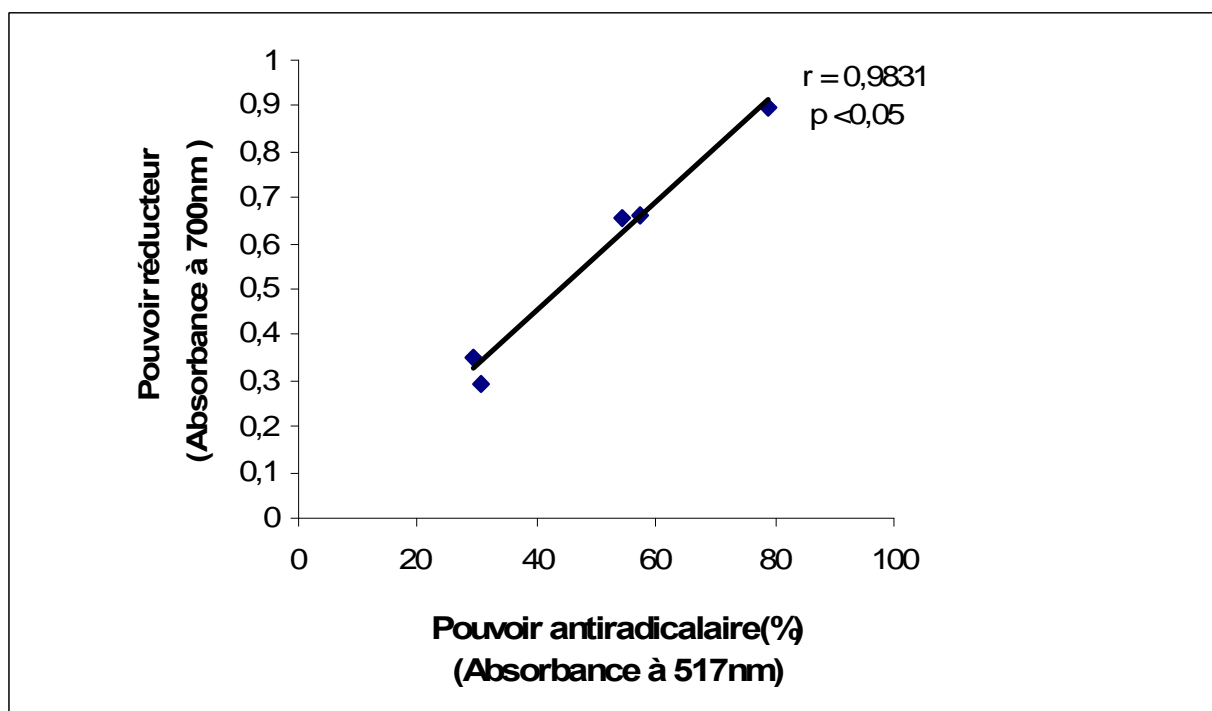


Figure 28 : corrélation entre le pouvoir réducteur et le pouvoir antiradicalaire.

### **III. 2. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA**

Le discernement de l'interaction polyphénols-protéine passe par plusieurs aspects, leur étude structurale, le principe de leur complexation, la nature de liaison, tous ces aspects varient en fonction d'un ensemble de paramètres.

Afin de caractériser et de mieux comprendre le phénomène d'interaction, l'effet de la concentration de l'extrait, la variation de la force ionique et de pH ont été étudiés.

La conception des complexes polyphénols-protéines est visualisable par l'aspect trouble de la solution (Kitson, 2004). La formation des complexes et l'influence des différents paramètres sont suivis par la mesure de la turbidité de la solution.

#### **III. 2. 1. Effet de la concentration des extraits**

La sélection des conditions expérimentales n'est pas hypothétique, car à pH 6,9 la protéine est chargée négativement (le pHi de la BSA est égal à 4,9), le tampon phosphate est utilisé dans le but de maintenir le pH du milieu à 6,9 sans affecter la force ionique, car celle-ci doit être tenue fixe (0,64 mM).

La formation des précipités résulte de l'interaction des polyphénols contenus dans l'extrait et la BSA. L'augmentation de la densité optique est relative à l'accroissement de la concentration de chaque extrait de plante. Pour toutes les plantes, il est clair que plus la concentration de l'extrait augmente plus la turbidité s'accroît, jusqu'à une certaine concentration qui diffère d'une plante à une autre, ce qui confirme que la formation du complexe polyphénol-BSA dépend étroitement de la concentration en polyphénols (De Freitas et Mateus, 2001a ; Frazier *et al.*, 2003 ; Richard *et al.*, 2006) (figure 29).

Toutes les courbes obtenues sont sous forme d'isotherme de Langmuir, qui suivent un modèle hyperbolique, généralement remarqué dans les études interactionnelles (Simon, 2003).

Ce phénomène peut être expliqué par une saturation de la protéine BSA par les polyphénols. Les résultats obtenus sont différents d'une espèce à une autre :

Pour *P. sativum* L., la DO maximale est atteinte à partir d'une concentration d'environ de 1 mg/ml.

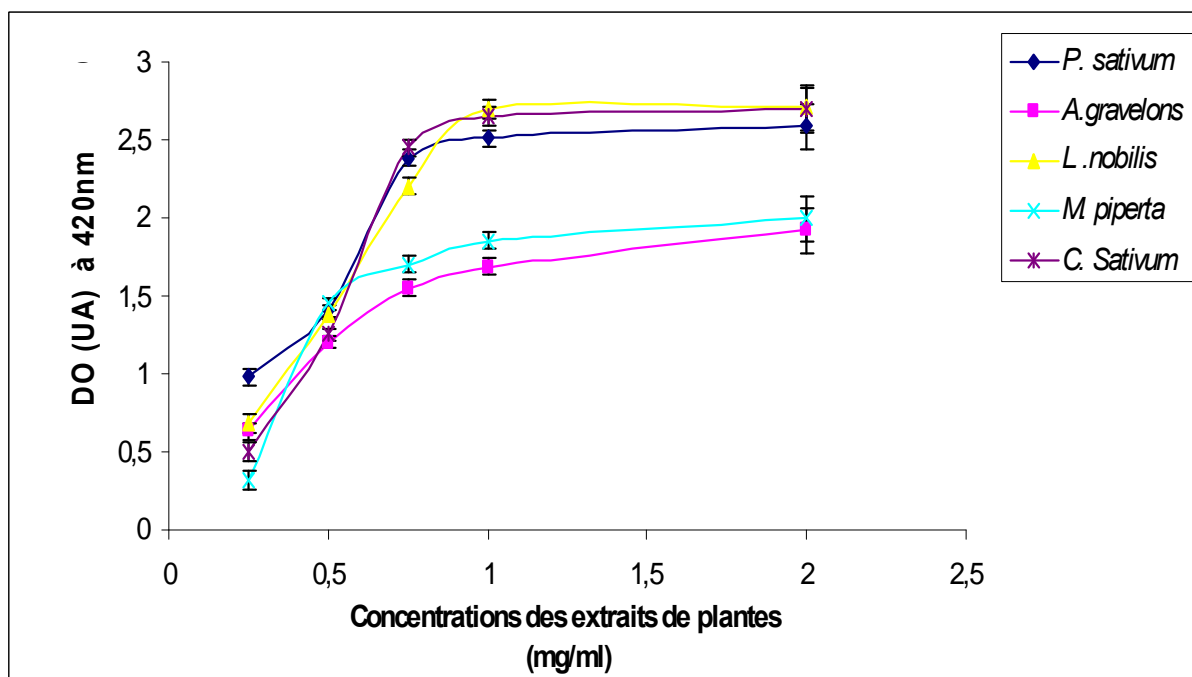
Pour *L. nobilis* L., DO maximale à une concentration de l'extrait de 1,25 mg/ml.

Pour *A. gravelons* L., DO maximale à une concentration de l'extrait de 2 mg/ml.

Pour *M. piperita* L., DO maximale à une concentration de l'extrait de 1,15 mg/ml.

Pour *C. sativum* L., DO maximale à une concentration de l'extrait 1 mg/ml.

Au-delà de ces concentrations la DO reste constante même avec de grandes concentrations de l'extrait.



**Figure 29 :** Variation de la DO en fonction de la concentration d'extrait polyphénolique pour les différentes plantes.

La variation de la densité optique est significative ( $p < 0,05$ ) pour les deux espèces *A. gravelons* L. et *C. sativum* L. pour toutes les concentrations testées, ceci peut être expliqué par la non saturation de la protéine BSA, l'espèce *M. piperita* L. ne présente pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) à partir de la concentration 1,15 mg/ml.

Pour *L. nobilis* L. à partir de la concentration de 1,25 mg/ml, la densité optique ne présente aucune différence significative ( $p < 0,05$ ), tandis que pour *P. sativum* L. à partir de 1 mg/ml.

Riitta (1996) a peu déterminé l'influence de la variation de la concentration des tanins (allant de 0 à 50 $\mu$ g) de six espèces de plantes et de leur capacité à interagir avec les protéines salivaires. L'association des tanins avec ces protéines augmente avec l'élévation de leur concentration dans le milieu réactionnel. Toutefois à une certaine concentration cette association tend à se stabiliser. Quoique ces concentrations soient distinctes entre elles, il a déduit que les protéines salivaires réagissent différemment d'une plante à une autre malgré leur teneur élevée en tanins. Par conséquent l'explication donnée pour ces différences, le phénomène de l'interaction est influencé par la qualité et non pas par la quantité des polyphénols (Viljanen, 2005).

D'autres travaux réalisés par une série de galloylglucoses (tanin hydrolysable) ont rapporté que le monogalloylglucose (tanin hydrolysable) n'a pas l'aptitude d'agréger la glucosidase (protéine), cependant une augmentation du nombre de groupements galloyls (deux à cinq) précipite cette protéine (glucosidase) (Viljanen, 2005).

Pour la BSA, sa précipitation nécessite plus de trois galloyls, toutes ces données renforcent la notion de rapport polyphénols/protéine nécessaire pour la formation et la sédimentation de complexe. Dans le cas de l'interaction monogalloylglucose/BSA un rapport 30 :1 n'atteint pas le seuil de précipitation, mais en variant ce rapport c'est-à-dire en augmentant la concentration des polyphénols à 85:1, la précipitation apparaît jusqu'à atteindre un palier de saturation (Viljanen, 2005).

Corrélativement, en étudiant la relation entre la structure chimique des tanins condensés et l'aptitude de précipiter les protéines ont conclu que les deux groupements hydroxyles des noyaux A et B de flavanol jouent un rôle primordial dans la stéréochimie et aussi dans l'encombrement stérique du complexe donc dans sa formation (Viljanen, 2005).

### **III. 2. 2. Effet de la force ionique sur l'interaction polyphénols-BSA**

Dans l'objectif d'étudier l'influence de l'effet de la force ionique dans la conception des complexes polyphénols-protéines, le NaCl est rajouté dans le milieu réactionnel.



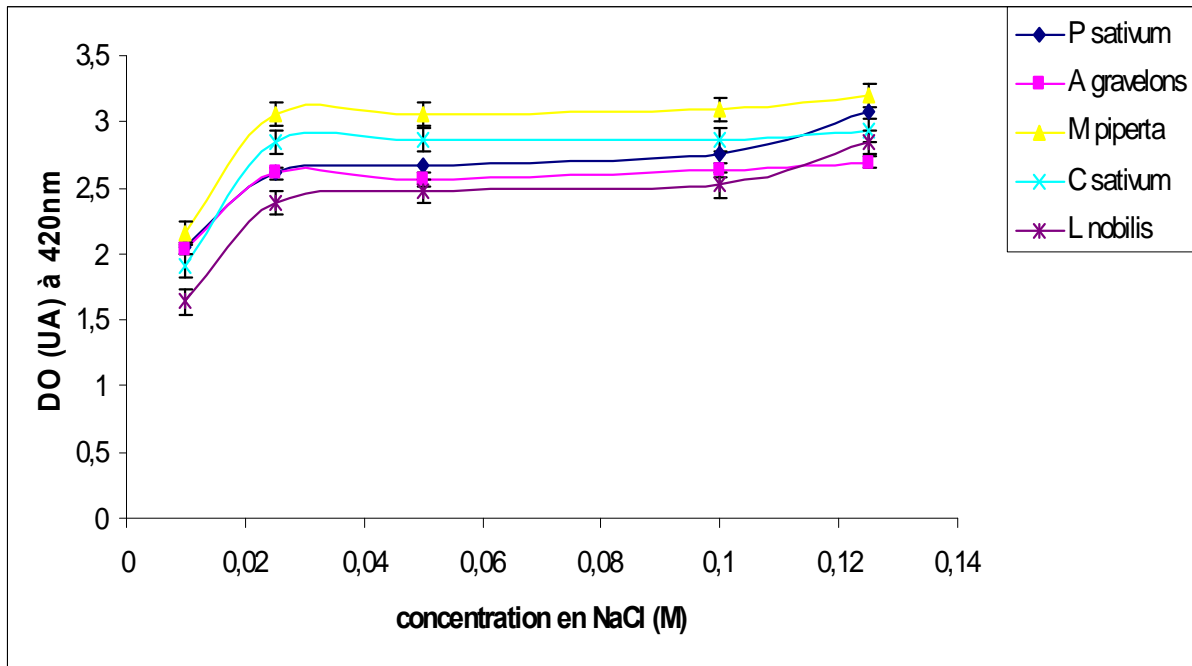
D'après les résultats obtenus la concentration en NaCl dans les solutions étudiées, influe sur le mécanisme d'interaction entre les polyphénols et la protéine BSA et donc dans la formation de complexe, malgré cela des différences sont observées pour chaque échantillon testé.

Pour *P. sativum* L., *A. graveolens* L., *M. piperita* L., *C. sativum* L., et *L. nobilis* L., l'allure des courbes est semblable cependant quelques différences sont considérées : La DO est en augmentation croissante aux concentrations de NaCl allant de 0.01 à 0.025 M, néanmoins les valeurs des absorbances sont différentes pour chaque extrait de plante testé (Figure 30).

Aux concentrations de NaCl allant de 0.025 à 0.1 M, la densité optique reste stable toute fois avec des valeurs variables, l'espèce *M. piperita* L. est la plus influencée par l'ajout de NaCl dans le milieu réactionnel, elle donne la densité optique la plus importante, ce qui signifie que la précipitation des complexes polyphénols-tanins est accentuée, suivi de *C. sativum* L., *P. sativum* L., *A. graveolens* L. et *L. nobilis* L.

Au-delà de la concentration de 0,1 M. une légère augmentation est observée pour *L. nobilis* L., *P. sativum* L., et *M. piperita* L. Alors que pour *A. graveolens* L., et *C. sativum* L., la DO reste constante.

Les résultats obtenus par plusieurs auteurs réaffirment les constatations obtenues dans le présent travail, ce qui mène à dire que la force ionique est l'un des facteurs importants qui contribuent à la conception des complexes polyphénols-protéines (Freitas *et al.*, 2003 ; Kawamoto et Nakatsubo, 1995 ; Mateus *et al.*, 2004 ; Simon, 2003).



**Figure 30 :** Variations de la DO en fonction de la concentration de NaCl.

L'action des sels sur les propriétés physicochimiques des protéines est fonction de la force ionique du milieu réactionnel, elle est calculée comme suit :

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_i (C_i \cdot Z_i^2)$$

Où :

$C_i$  = concentration molaire de l'ion  $i$ .

$Z_i$  = valence de l'ion.

- A faible force ionique, les sels réduisent les liaisons électrostatiques et favorisent l'hydratation des groupements polaires: effet dissolvant.
- A forte force ionique, ils fixent l'eau au dépend de la surface protéique: effet insolubilisant, on parle de relargage de la protéine (la protéine précipité) (Daune, 1993).

D'ailleurs, une force ionique élevée peut avoir deux effets sur la solubilité : neutraliser certaines charges ioniques requises en surface pour le maintien de la solubilité, et présenter une compétitivité avec les protéines pour les molécules d'eau disponibles en solution. Quand la concentration en sel est assez élevée, la protéine est privée des molécules d'eau qui l'hydratent, celle-ci sort de solution et précipite. C'est ce qu'on appelle le phénomène de *salting-out* (Simon, 2003).

### III. 2. 3. Effet du pH sur l'interaction polyphénols – BSA

Selon les résultats et d'après les courbes tracées dans la figure 31, la variation du pH du milieu réactionnel a un effet significatif sur la solubilisation ou la précipitation des complexes polyphénols-protéines. En effet les résultats obtenus dévoilent que le pH est une variante importante et non négligeable dans la conception du complexe. En conséquence l'influence de ce paramètre se traduit soit par l'augmentation de l'absorbance ou par sa diminution. L'analyse des résultats montre qu'aux pH acides 2,5 à 4, les DO sont faibles pour toutes les plantes, avec des valeurs plus ou moins différentes d'une plante à l'autre. Pour le pH 4, l'espèce *M. piperita* L. atteint une densité optique de 1,8. Pour *C. sativum* L., *L. nobilis* L., *A. gravelons* L. et *P. sativum* L. les densités optiques sont de 1,7, 1,6, 1,55, et 1,7 respectivement. Avec l'augmentation de pH, les densités optiques augmentent pour toutes les plantes sans exception, jusqu'aux environ de pH 5 correspondant au point isoélectrique de la protéine BSA, au-delà de ce dernier les valeurs des densités optiques diminuent avec des pH plus élevés. Toute fois à partir de pH 7,5 une progression de la DO est observée pour les plantes *L. nobilis* L., *P. sativum* L., et *A. gravelons* L., contrairement aux espèces *C. sativum* L. et *M. piperita* L. Cette différence est probablement due à la différence dans la qualité des extraits polyphénoliques.

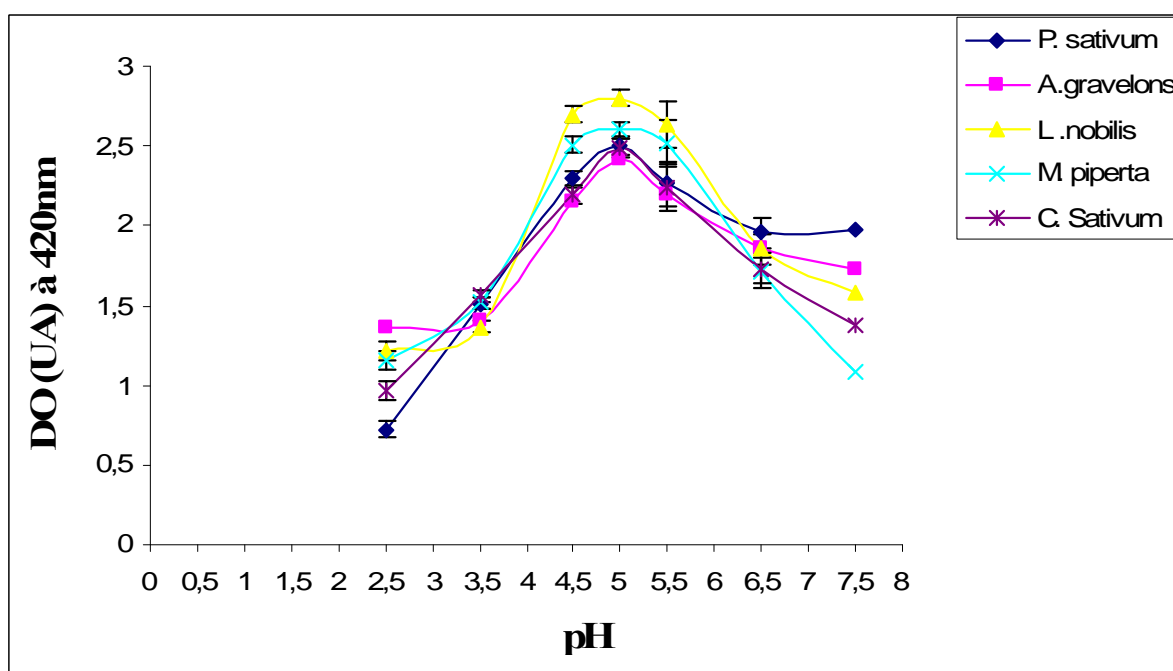


Figure 31 : Variation de la DO en fonction du pH.

Le pH du milieu réactionnel est l'un des facteurs qui influence fortement la formation et la précipitation des complexes tanins-protéines, En effet le pH peut agir sur plusieurs facteurs : Sur l'ionisation du substrat, sur la structure de la protéine : donc sur sa stabilité, sur la liaison du polyphénol à la protéine (Prigent, 2005). La charge électrique d'une protéine à son point isoélectrique est égale à zéro. Cependant, plus l'environnement autour de la protéine s'éloigne de ce point isoélectrique plus sa charge augmente. En conséquence, plus la charge nette est élevée sur une molécule de protéine, plus il y a de répulsions électrostatiques entre les molécules, empêchant ainsi les interactions requises pour former les complexes (Bennick, 2002).

Selon Hagerman et Butler (1981), les interactions sont très élevées aux environs du pH isoélectrique de la protéine où les forces de répulsions électrostatiques sont minimisées. La BSA qui est une protéine globulaire à pHi acide, elle a une grande affinité pour les tanins à pH 4,9 et les protéines basiques comme les lysozymes qui ont une grande affinité à pH élevé (Hagerman et Butler, 1981).

Quant à Naczka *et al.* (1996), Ils concluent que cette précipitation ne dépend pas uniquement de la disponibilité des groupements phénoliques non ionisés pour la formation des liaisons hydrogènes mais aussi de type de protéines dans le mélange réactionnel (Prigent, 2005). On a suggéré que les tanins ne fixent pas les protéines à pH élevé, car les groupements hydroxyles phénoliques sont ionisés et sont indisponibles pour les liaisons hydrogènes (Hagerman et Butler, 1978).

L'augmentation de la densité optique aux environ de pH 5 pour les différentes plantes correspond aux pH isoélectriques de la BSA. Ces résultats, dans une certaine mesure sont conformes à ceux obtenus par Siebert (2006). Aux pH acides, les polyphénols se clivent en deux unités : une unité terminale et un carbocation réactif instable. Les groupements nucléophiles des acides aminés interagissent avec le carbocation (liaisons covalentes) formant ainsi une monocouche autour des protéines, les nouvelles parties extérieures sont exposées de nouveau à une dépolymérisation et ainsi de suite.

La dépolymérisation ne permet pas la fixation des polyphénols sur les protéines selon le mécanisme multidentellé. Le complexe carbocation-protéine réagit donc

seulement avec un mécanisme monodentellé. Ce système de complexation permet de mieux commenter en partie les densités optiques faibles obtenues aux pH acides allant de 2,5 à 4,5 (Prigent, 2005).

Les travaux menés par Prigent et ses collaborateurs (2005) ont confirmé que dans un milieu réactionnel basique, la formation des précipités est considérable, en effet L'augmentation du pH induit la déprotonation des groupements hydroxyles des polyphénols, ceci conduit à la formation de quinones réactives, qui peuvent interagir avec la protéine BSA. Cette molécule est très instable et tend à réagir, par des mécanismes d'oxydoréduction, avec d'autres molécules, par polymérisation avec d'autres composés phénoliques, ou bien par des réactions covalentes avec les protéines.

### **III. 3. Activité antibactérienne**

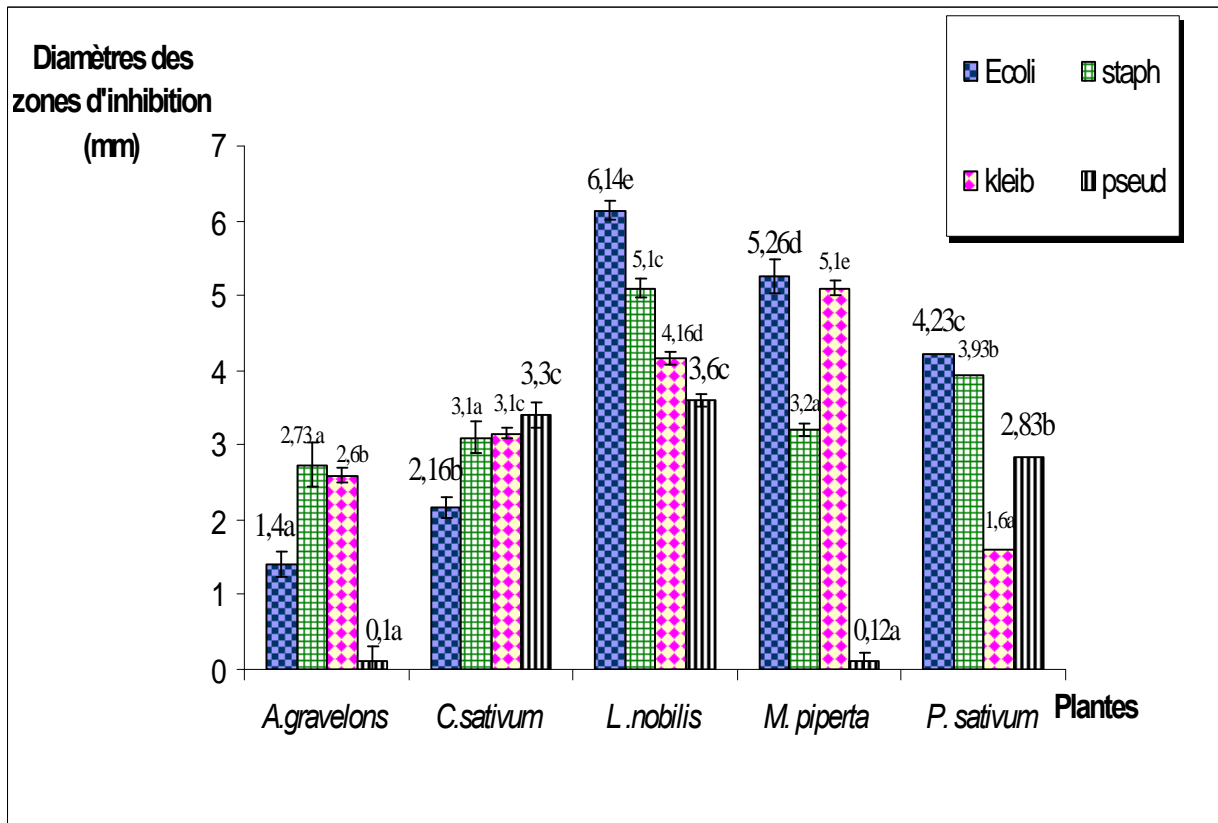
Dans le cas particulier de la thérapeutique antimicrobienne, les phénomènes de résistances microbiennes et les effets secondaires des antibiotiques imposent la recherche permanente de nouvelles molécules efficaces et non toxiques (Zouhdi *et al.*, 1997).

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence par la technique de diffusion sur disques en papier une éventuelle activité antibactérienne des extraits méthanoliques des cinq plantes médicinales étudiées contre quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

La méthode des disques est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et les extraits de plantes. Ces analyses sont basées sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner (Gülçin *et al.*, 2004).

La lecture des résultats est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition exprimée en millimètre, les résultats sont donnés dans les histogrammes suivants.

En général, les résultats des tests antibactériens vis-à-vis de quatre souches ciblées, montrent l'activité des extraits de plantes utilisées contre toutes les souches (figure32).



**Figure 32 :** Représentation de l'activité antibactérienne des extraits de plantes contre : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, et *P. aeruginosa*. (n=3).

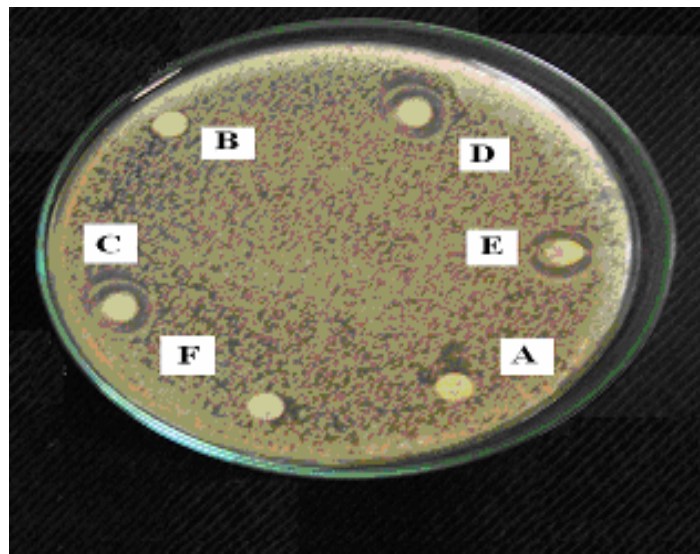
Les valeurs portant la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0.05$ ).

Le diamètre de la zone d'inhibition calculé contre la souche *E. coli* est de 6,14 mm pour *Petroselinum sativum* L. qui présente le diamètre le plus élevé, suivi de 5,26 mm pour *M. piperita* L., 4,23 mm pour *L. nobilis* L., tandis que pour *C. sativum* L. et *A. graveolens* L. ont donné les résistances les plus faibles avec des diamètres de 2,16 mm et 1,90 mm respectivement, et pour le témoin un diamètre de 0,5 mm (Figure 33). L'analyse de ces résultats a révélée une grande différence au niveau du pourtour des disques contenant les extraits testés en comparant avec le disque témoin. Ce qui signifie que les extraits testés montrent une activité antibactérienne significative, toute fois l'inhibition décelée est différente significativement ( $p < 0.05$ ) d'une plante à une autre, la plante *P. sativum* L. a présentée la meilleure activité d'inhibition contre la souche *E. coli*, ceci peut être expliqué par sa richesse en flavonoïdes, suivi de l'extrait de *M. piperita* L. et de *L. nobilis* L. qui montrent aussi des inhibitions importantes probablement du à leur richesse en composés phénoliques. Pour les espèces *A*

*gravelons* L. et *C sativum* L. de faibles zones d'inhibition ont été obtenues, ceci peut être due à leur faible teneur en ces composés.

Les travaux rapportés par Jansen *et al.* (1987) sur les extraits polyphénoliques de l'espèce de laurier confirment les résultats trouvés dans cette présente étude.

L'étude faite par Jamesdin *et al.* (2008), en utilisant les extraits aqueux des parties aériennes des deux plantes *M piperita* L. et *C sativum* L., a obtenu des diamètres de 11,6mm et 15mm respectivement.



**Figure 33** : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes Contre la souche *Escherichia coli*.

**A** : *A. gravelons*, **B** : *C. sativum*, **C** : *L. nobilis* **D** : *M. piperita*, **E** : *P. sativum*,  
**F** : Témoin.

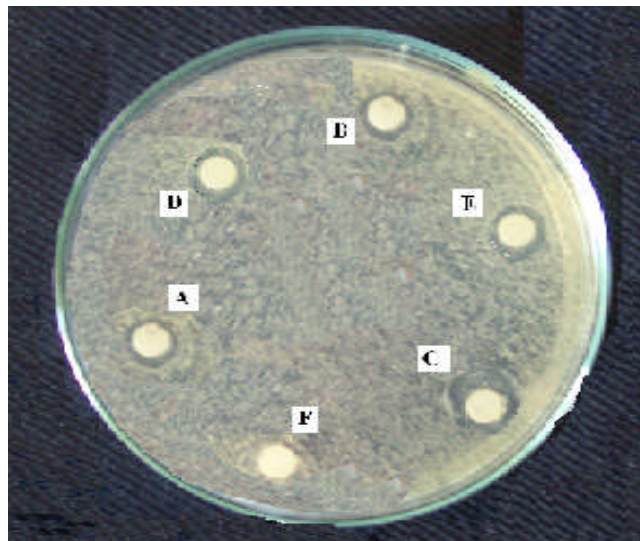
Les résultats de l'effet antibactérien des extraits contre la souche *Staphylococcus aureus* sont comme suit :

Une meilleure inhibition est observée pour *L nobilis* L. et *P sativum* L., avec des diamètres de 5,1mm et 3,93mm respectivement, une activité inhibitrice modérée pour *M piperita* L. et *C sativum* L. avec des zones d'inhibition de 3,2mm, 3,1mm respectivement, quant à *Apium gravelons* L. une activité moindre est observée avec un diamètre de 2,73mm. Toutes les plantes présentent des différences significatives mise à part *A gravelons* L., *C sativum* L. et *M piperita* L. ne présentent aucune différence ( $p < 0.05$ ) (Figure35).

L'étude phytochimique effectuée par Alcatraz *et al.* (2000) sur quelques extraits de plantes a révélée l'inhibition de *Staphylococcus aureus* qui dépend essentiellement de la qualité des polyphénols, non pas de leur quantité, en plus de la structure des flavonoïdes la présence de deux groupements OH en position *ortho*, et en position 3 accentue l'inhibition de cette souche (Moreira *et al.*, 2005).

Les extraits méthanolique de *L nobilis* L., ils possèdent une activité inhibitrice contre plusieurs bactéries (Fang *et al.*, 2005), ces propriétés antibactériennes sont dues à l'existence de  $\beta$  - pinène, et terpinéol-4 et à d'autres composés (Simic *et al.*, 2003 ; Kang *et al.*, 2002 ; Barla *et al.*, 2007).

Bayr *et al.* (2008) ont trouvé des zones d'inhibitions de 9,2 mm et de 10mm pour *M piperita* L. et *P sativum* L., respectivement contre l'espèce pathogène *Staphylococcus aureus*, ces zones d'inhibitions sont supérieures à celles trouvées dans ce présent travail, ceci peut être expliqué par le faite que ces auteurs ont testé que les huiles essentielles de ces plantes.



**Figure 34 :** Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes contre la souche *Staphylococcus aureus*.

**A :** *A. gravelons*, **B:** *C. sativum*, **C :** *L. nobilis*, **D :** *M. piperita*, **E :** *P. sativum*, **F :** Témoin.

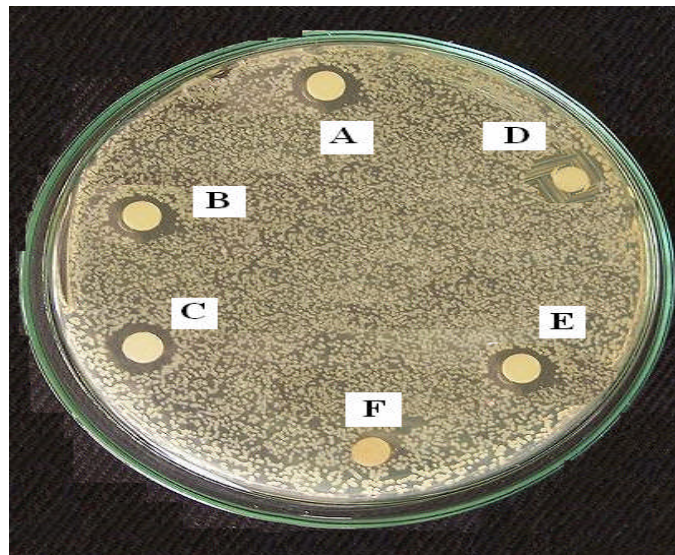
Pour la souche *Klebsiella pneumoniae* des zones d'inhibition ont été également observées pour tout les extraits testés (Figure 35), la plus grande zone est obtenue pour l'extrait méthanoliques de *M. piperita* L. avec un diamètre de 5,1 mm, suivi de 4,16 mm pour *L. nobilis* L., des zones plus faibles : 3,1mm, 2,6mm, et 1,6mm sont obtenues



respectivement pour les extraits de *C. sativum* L., *A. gravelons* L., et *P sativum* L., toutes ces plantes présentent des différences significatives ( $p < 0.05$ ).

L'étude réalisée par Sauvt *et al.* (2008) sur l'effet antibactérien de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* en utilisant l'extrait éthanolique de la plante *C sativum* L. a révélé des zones d'inhibitions de 9,9 mm, ce résultat est supérieur à celui trouvé dans notre étude.

D'autres travaux ont été réalisés dans le même objectif, Carl *et al.* (2008), Monha *et al.* (2008), Satinaba *et al.* (2007), ont utilisé les extraits polyphénoliques des plantes *C sativum* L., *P sativum* L., *M piperita* L., pour l'inhibition de la souche *Klebsiella pneumoniae*, ont collecté les résultats suivants : 9mm, 12mm, 16mm.

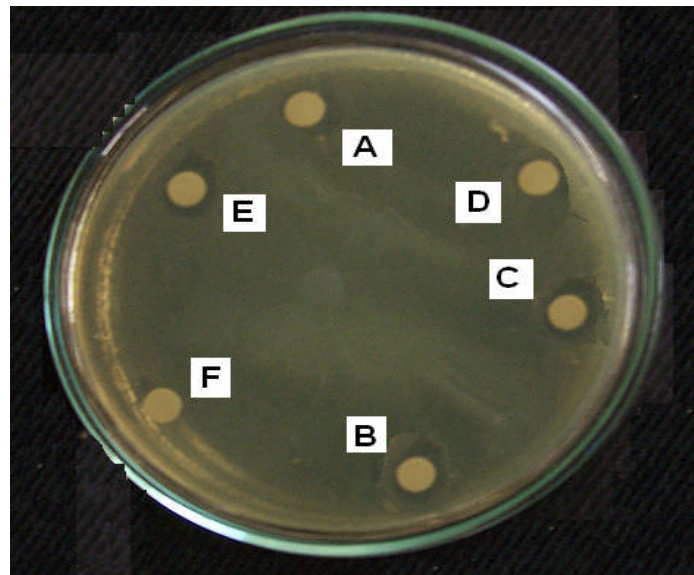


**Figure 35** : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes  
Contre la souche *Klebsiella pneumoniae*.

**A** : *A. gravelons* L., **B** : *C. sativum* L., **C** : *L. nobilis* L., **D** : *M. piperita* L., **E** : *P. sativum* L., **F** : Témoin.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie la plus résistante aux extraits testés comparée aux autres bactéries (figure 36), en effet les zones les plus importantes obtenues sont de 3,6mm et 3,3mm pour *L. nobilis* L. et *C. sativum* L. respectivement, qui ne présentent aucune différence significative entre elles ( $p < 0.05$ ), tandis que de faible zones : 2,83mm, 0,12mm, et 0,1mm pour *P. sativum* L., *M. piperita* L. et *A. gravelons* L. respectivement (*M. piperita* L. et *A. gravelons* L.) ne présentent aucune différence significative ( $p < 0.05$ ).

D'après les résultats obtenus dans la présente étude la souche *Pseudomonas aeruginosa* est la souche la plus résistante vis à vis des extraits de plantes testés, essentiellement *M. piperita* L. et *A. gravelons* L. qui ne présentent presque aucune inhibition. Ceci peut être expliqué par la capacité de cette bactérie à synthétiser et à sécrète des agrégats structurés, appelés biofilms ou matrice composée de polysaccharides. Ces biofilms forment une barrière physique contre l'entrée d'agents antimicrobiens, et elle sécrète aussi un complexe enzymatique extracellulaire qui peuvent dégrader les polyphénols (Salbert *et al.*, 2007).



**Figure 36** : Effet antibactérien des extraits méthanoliques des plantes  
Contre la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

**A** : *A. gravelons* L., **B** : *C. sativum* L., **C** : *L. nobilis* L., **D** : *M. piperita* L., **E** : *P. sativum* L., **F** : Témoin.

Les zones d'inhibitions obtenues contre les différentes souches bactériennes, peuvent être dues aux composés présents dans les extraits tels que les polyphénols : tannins, phénols et flavonoïdes, ces derniers inhibent fortement la croissance bactérienne. Ces groupes phytochimiques sont connus par leurs effets antimicrobiens (Bérubé-gagnon, 2006 ; Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999 ; Watt et Breyer-Brandwijk, 1962). Leur présence dans les extraits de plantes permet et justifie l'activité observée. (Kueté *et al.*, 2006).

Ces activités antibactériennes ne sont pas dues à la présence d'une substance particulière seulement mais, sont la résultante de l'action complexe de diverses structures aromatiques, notamment la présence des composés phénoliques Il est connu

que ces composés jouent un rôle important chez les plantes dans le phénomène de résistance aux maladies dues aux infections bactériennes (Bérubé-gagnon, 2006 ; Bruneton, 1999).

La tolérance de bactéries aux polyphénols dépend essentiellement de l'espèce bactérienne et de la structure des polyphénols. (Almajano *et al.*, 2008).

Plusieurs travaux mettent en évidence l'action de flavonoïdes, et en particulier certains flavane-3-ols, lors des mécanismes de résistance vis-à-vis de plusieurs maladies (Lateur, 2002 ; Tim Cushnie *et al.*, 2005). L'activité antibactérienne des flavonoïdes est renforcée par la présence des groupements hydroxyles dans le noyau B en position 2, 4 ou en position 2, 6 et dans le noyau A en position 5,7 (Cai *et al.*, 2005).

La diversification des résultats obtenus avec ceux de la bibliographie peut être attribuée aussi à :

L'importance des techniques employées dans l'évaluation de l'activité antibactérienne. La variation du volume de l'inoculum bactérien, la dimension et l'épaisseur des disques en papier, la nature des espèces bactériennes utilisées et la durée d'incubation) (Cowan, 1999 ; Ríos et Recio, 2005).

Les zones d'inhibitions obtenues dans cette présente étude sont inférieures comparées aux résultats déjà publiés. Le faible diamètre obtenu peut être expliqué par la faible concentration des polyphénols dans les extraits utilisés (la longue durée de stockage des extraits). L'hypothèse de la résistance des souches bactériennes n'est pas à écarter, comme il a été rapporté par plusieurs auteurs, qui ont mis en évidence la dégradation des composés phénoliques par certains microorganismes (Almajano *et al.*, 2008 ; Leclerc *et al.*, 1983).

## Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies ou phytothérapie est à la fois la plus ancienne et la plus moderne des thérapeutiques. De plus en plus, les polyphénols capturent l'intérêt de la génération actuelle des chercheurs ; la course à la purification des polyphénols extraits de sources naturelles avance dans un rythme compétitif, outre les progrès substantiels réalisés sur l'identification des cibles d'action des polyphénols susceptibles d'expliquer leurs effets sur la santé et déterminer leur biodisponibilité.

A l'issue de cette étude qui représente une contribution à l'étude phytochimique de certaines plantes médicinales de la flore Algérienne, il ressort de l'analyse des résultats obtenus que toutes les plantes étudiées possèdent des teneurs importantes en eau qui varient de 47,1% à 88,69 %, ce qui confirme leurs richesses hydriques, les rendements d'extraction sont assez considérables pour toutes les plantes, ce qui réaffirme le bon choix de solvant d'extraction, quant à leur étude phytochimique, toutes les plantes renferment les différentes classes de composés phénoliques dosées, les polyphénols totaux varie entre 70,48 (*C. sativum* L.) à 354,89 mg EAG/g MS (*L. nobilis* L.), les teneurs en polyphénols polaires sont supérieures à celles des polyphénols apolaires pour toutes les plantes étudiées, ceci peut être expliqué par la sélectivité de solvant d'extraction qui a permis la disqualification des composés apolaires en favorisant les composés polaires. La concentration en flavonoïdes varie entre 38,84 (*C. sativum* L.) et 79,01 mg EQ /g MS (*P. sativum* L.). Le dosage des tanins a révélé une teneur la plus importante pour *L. nobilis* L. (25,39 mg EAT/g MS) et la teneur la plus faible pour *C. sativum* L. (1,67mg EAT /g MS),

Cette étude phytochimique des plantes étudiées tend à répondre à un autre objectif, c'est l'étude de certaines de leurs propriétés biologiques, les résultats collectés ont fait ressortir les plantes ayant une forte activité antioxydante selon l'ordre décroissant suivant : *P. sativum* L., *L. nobilis* L., *M. piperita* L., *C. sativum* L., tandis que *A. garaveolns* L. n'a présenté qu'une faible activité.

L'étude de l'interaction polyphénols-protéines a été également confirmée pour toutes les plantes testées par la formation des complexes entre les extraits

polyphénoliques et la BSA, toutefois les résultats obtenus révèlent que les complexes formés sont fortement influencés par la variation des paramètres testés, que se soit les paramètres intrinsèques (concentration en polyphénols) ou extrinsèques (pH et force ionique).

L'évaluation de l'activité antibactérienne a dévoilée que la majorité des extraits testés sont dotés d'une activité antibactérienne vis à vis des quatre souches testées, cependant les inhibitions obtenues s'avèrent différentes, dépendantes essentiellement de l'espèce bactérienne et de l'extrait de plante, quoique la souche *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance vis-à-vis des extraits testés.

Cette étude a permis de mieux connaître la phytochimie de cinq plantes locales. Elle a en outre démontré leur intérêt comme source de nouveaux produits naturels et de composés aux activités biologiques et pharmacologiques prometteuses. Seule une faible partie de plusieurs espèces de la flore algérienne a été caractérisée du point de vue phytochimique. Les sujets d'étude dans ce domaine ne manquent donc pas et chaque plante est un réservoir potentiel de métabolites avec des caractéristiques phytochimiques et pharmacognosiques originales, il serait donc intéressant d'étayer les recherches dans ce domaine.

De même ce présent travail doit être poursuivi en envisageant d'autres aspects de ce thème :

- En montrant l'étude interactionnelle sur d'autres protéines comme les protéines salivaires, et en testant d'autres paramètres tel que la température ;
- En étudiant l'activité antibactérienne contre d'autres souches tout en déterminant la concentration d'inhibition minimale ;
- En étalant l'étude sur d'autres organes de la plante : écorce, tiges, et fruits ;
- En Identifiant les différents composés phénoliques des plantes par des techniques plus performantes : HPLC, GC-MS et RMN pour mettre en valeur l'utilisation de ces espèces en thérapie ;
- En étudiant d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés antifongiques, anti-inflammatoires, anti-virales et autres ;
- En fin, il est important de suivre cette étude par des applications *in vivo* afin d'évaluer leurs effets sur l'organisme vivant.

## *Références électroniques*

### **Anonyme 1, (2007)**

**A : Plante entière :** [http://upload. www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_rolv\\_no-images-planteleksikon\\_jpg\\_fichiers\CAOT2RCX.htm](http://upload.www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_rolv_no-images-planteleksikon_jpg_fichiers/CAOT2RCX.htm).

**B: Feuilles :** <http://www.vasteplant.be/catalog/index.cfmfuseaction=DETAIL&TREFNAAM=ARAB>.

**C: Fleurs :** [http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http www\\_graines-de-jardin\\_fr-familles-17\\_jpg\\_fichiers\graine](http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttpwww_graines-de-jardin_fr-familles-17_jpg_fichiers\graine).

### **Anonyme 2, (2007)**

**A : Plante entière :** [http://flora.uniud.it/erbario/ \*Coriandrum sativum\* EIAOL/Erbario/cinulvivx.435jpg](http://flora.uniud.it/erbario/Coriandrum_sativumEIAOL/Erbario/cinulvivx.435jpg)

**B : Feuilles ;** [http://http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_rolv\\_no-images-planteleksikon-M\\_jpg\\_fichiers\Coriandrum S. ndr.htm 655jpg](http://http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_rolv_no-images-planteleksikon-M_jpg_fichiers/Coriandrum_S.ndr.htm655jpg)

**C: Fleurs;** [http://crdp.ac besancon.fr/flore/ flore/Apiacés/ photos/dittrichia\\_viscosa\\_nmk\\_63.jpg](http://crdp.acbesancon.fr/flore/flore/Apiacés/photos/dittrichia_viscosa_nmk_63.jpg).

### **Anonyme 3, (2007)**

**A: Plante entière :** [http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/lindman Laurus\\_nobiilis /573.jpg](http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/lindmanLaurus_nobiilis/573.jpg))

**B : Feuilles :** [http:// photo DES PLANTES\content\\_jpg.htm](http://photoDESPLANTES/content_jpg.htm)

**C : Fleurs :** [http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_rolv\\_no-images-planteleksikon-M\\_jpg\\_fichiers\Laurus\\_nobiilis.htm](http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_rolv_no-images-planteleksikon-M_jpg_fichiers/Laurus_nobiilis.htm)

### **Anonyme 4, (2007)**

**A : Plante entière :** [http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_rolv\\_no-images-planteleksikon-M-mentha\\_piperita\\_jpg\\_fichiers\CAOT2RCX.htm](http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_rolv_no-images-planteleksikon-M-mentha_piperita_jpg_fichiers/CAOT2RCX.htm).

**B : Feuilles :** [http://www. Photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_graines-de-jardin\\_fr-familles-13\\_jpg.htm](http://www.PhotoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_graines-de-jardin_fr-familles-13_jpg.htm)

**C : Fleurs :** [http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_rolv\\_no-images-planteleksikon-M-mentha\\_piperita\\_jpg.htm](http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_rolv_no-images-planteleksikon-M-mentha_piperita_jpg.htm)

### **Anonyme 5, (2007)**

**A : Plante entière :** [http://www. \photo DES PLANTES\Google-prenteresultaat vir http--www\\_graines-de-jardin\\_fr-familles-13\\_jpg\\_fichiers\CASHUVAN.htm](http://www.\photoDESPLANTES/Google-prenteresultaatvirhttp--www_graines-de-jardin_fr-familles-13_jpg_fichiers/CASHUVAN.htm).

**B : Feuilles** : [http://www. photo DES PLANTES\Google-prenteresultatvir http--www\\_graines-de-jardin\\_fr-familles-13\\_jpg\\_fichiers\graine.htm](http://www.photoDESPLANTES/Google-prenteresultatvirhttp--www_graines-de-jardin_fr-familles-13_jpg_fichiers\graine.htm).

**C : Fleurs** : [http://www. www\\_graines-de-jardin\\_fr-familles-17jpg\\_fichiers\CASHUVAN.htm](http://www.www_graines-de-jardin_fr-familles-17jpg_fichiers\CASHUVAN.htm)

# Glossaire

## *Les termes botaniques utilisés*

**Actinomorphes** : se dit d'une fleur à symétrie radiale par rapport à son axe –fleur régulière, s'oppose à zygomorphe.

**Angiospermes** : (du grec *angi-*, «enveloppe», et *sperma*, «graine») groupe réunissant les plantes à fleurs et constituant la forme la plus évoluée du règne végétal. Chez les angiospermes, les ovules sont enfermés dans un ovaire.

**Annuelle** : qui ne dure qu'un an ; qui a lieu tout les ans.

**Arbuste** : Il désigne une plante ligneuse d'une taille inférieure à 7 m à tige bien individualisée et à tronc marqué. Le terme arbuste est souvent considéré comme un synonyme d'**arbrisseau** (atteint 3 ou 4 m), mais il s'en distingue par la présence d'un tronc bien diversifié. Lorsqu'on a affaire à une plante ligneuse d'une taille inférieure à 50 cm, souvent rampante, on parle de **sous- -arbrisseau**.

**Bisannuelle** : plante accomplissant son cycle biologique en deux ans. Les plantes bisannuelles stockent des réserves nutritives au cours de leur première année de croissance, fleurissent et portent des fruits pendant la seconde année, puis meurent.

**Bractées** : petites feuilles couvrant la fleur avant son éclosion.

**Calice** : enveloppe extérieure de la fleur.

**Cannelées** : ornée de cannelure (sillon).

**Carpophore** organe massif et sporifère des champignons supérieurs, souvent constitué d'un pied et d'un chapeau.

**Coriace** : dur.

**Crénelé** : pourvu de créneaux de crénelures.

**Dicotylédones** : l'une des deux classes d'angiospermes. Chez les dicotylédones, l'embryon possède deux cotylédons, des feuilles primordiales qui ne deviennent généralement pas de vraies feuilles mais assurent l'alimentation de la plantule.

**Epis** : extrémité de la tige de certaines graminées, ou sont regroupées les gaines.

**Etamines** : partie de la fleur qui produit du pollen..

**Fibreuses** : composé de fibre.



**Glabres** : dépourvus de poils (exemple de barbe).

**Herbacée** : plantes dont le tissu végétal reste vert et peu consistant et qui ne développent pas de tige ligneuse permanente. Les plantes herbacées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces et regroupent les angiospermes, mais aussi les fougères, les mousses et les prêles.

**Involucre** : désigne une collerette d'écailles ou de bractées libres ou soudées ensemble à la base d'une inflorescence, notamment chez les Ombellifères, ou les asteraceae (composées).

**Involucelle** : On donne ce nom à un assemblage de petites folioles qui constituent un involucre particulier autour d'une ou de plusieurs fleurs. Dans les Ombellifères, l'involucelle accompagne les ombellules ou ombelles partielles; telles sont les ombellules de la carotte et de l'ammi majeur.

**Limbe** : partie plate de la feuille que parcourent les nervures.

**Linné (L.)** : Nom propre, le botaniste suédois **Karl von Linné** (1707-1778) est à l'origine de la classification binomiale des espèces. C'est un adepte de la théorie du fixisme, les animaux et les végétaux ayant été créés, pour lui, lors de la Genèse.

**Méricarpes** : Carpelles secs distincts des Apiaceae, contenant une graine.

**Ombellifère** : grande famille de plantes à fleurs herbacées, comprenant de nombreux aromates et plantes comestibles. Cette famille de dicotylédones compte environ trois mille espèces et est présente sur la quasi-totalité du globe, bien qu'elle soit plus fréquente dans les zones tempérées. Elle est bien connue pour ses inflorescences caractéristiques, les ombelles.

**Ovaire** : organe de l'appareil génital des femelles des espèces animales à reproduction sexuée, responsables de la formation des ovules.

**Ovoïde** : en forme d'œuf.

**Pennatiséqué** découpée de manière symétrique par rapport à l'axe de la nervure centrale, avec des lobes atteignant la nervure centrale.

**Persistant** : Se dit d'un organe, notamment les feuilles, qui reste en place à chaque saison.

**Pétales** : chacune des parties de la corolle d'une fleur.

**Pivotante** : tourne sur un pivot ou autour d'un axe.

**Racine pivotante et fuselée :** tourne sur un pivot ou autour d'un axe en forme de fuseau.

**Rainurée :** en taille longue et étroite.

**Spermaphytes :** Spermaphytes (plantes à fleurs) Chez les spermaphytes, la plante feuillée, développée et bien visible, est, comme chez les fougères, le sporophyte. Mais le gamétophyte est très réduit et difficile à découvrir. Des recherches longues et délicates ont montré que les grains de pollen qui se forment dans les étamines représentent des spores mâles, à l'intérieur desquels se forment des gamétophytes microscopiques, pratiquement réduits à deux gamètes mâles. Le gamétophyte femelle est également minuscule. Il est représenté par une structure, le sac embryonnaire, contenue dans l'ovaire. Le sac embryonnaire renferme deux archégonies rudimentaires.

**Spongieuses :** qui ressemble à une éponge qui s'imbibe comme elle.

**Tétrakène :** fruit formé par 4 akènes (Lamiacées).

### *Les termes médicaux utilisés*

**Aérophagie :** pénétration d'air dans l'oesophage et dans l'estomac.

**Analgsiques :** qui calme les douleurs névralgique, produit qui atténue ou supprime la sensibilité à la douleur.

**Apéritif :** qui ouvre et stimule l'appétit.

**Arthrite :** inflammation d'une articulation.

**Asthénie :** état de faiblesse de dépression.

**Atonie :** manque de force, de vitalité.

**Carminatif :** Qui résorbe les gaz intestinaux.

**Cholagogue :** médicament destiné à provoquer la vidange de la vésicule biliaire dans l'intestin.

**Dépuratif :** Qui purifie l'organisme, qui élimine les toxines.

**Digestible :** qui peut être digéré.

**Diurétiques :** substance agissant sur les reins et ayant pour effet d'augmenter la quantité d'eau émise dans l'urine. La caféine, par exemple, est un diurétique léger.

**Dyspepsique dyspepsie** : digestion difficile, lente ou pénible, due à un trouble fonctionnel de l'appareil digestif, dont l'origine est parfois organique. La cause organique de la dyspepsie peut être une gastrite, un ulcère gastro-duodéal ou un calcul de la vésicule biliaire. Les causes purement fonctionnelles, sans lésion d'un organe, relèvent souvent de la psychosomatique.

**Dysménorrhée** : menstruation douloureuse apparaît dès le début de la vie génitales chez certaines femmes ou plus tard.

**Emménagogue** : Qualifie une substance qui provoque la menstruation.

**Engelures** : lésions inflammatoires des extrémités (mains, pieds, nez, oreilles) causée par le froid.

**Expectorant** : qui facilite l'expectoration (expulsion des sécrétions).

**Flatulence** : présence de quantités excessives de gaz dans l'estomac ou l'intestin. La majorité des gaz contenus dans l'estomac sont constitués d'azote et d'oxygène contenus dans l'air avalé. L'azote n'est pratiquement pas assimilable et se déplace dans les intestins. D'autres gaz, essentiellement du dioxyde de carbone, du méthane et de l'hydrogène, se forment dans les intestins. Le dioxyde de carbone, résultant de la fermentation, est assimilé en grande partie. Les autres gaz, dus à la digestion incomplète d'aliments riches en amidon ou en cellulose, comme les haricots ou le chou, sont éventuellement expulsés par le rectum. L'odeur déplaisante qui en résulte est due à plusieurs éléments soufrés, en particulier les mercaptans, alcools dont l'atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre.

**Goutte** : maladie métabolique résultant d'un excès d'acide urique dans l'organisme.

**Néphrites** : maladies inflammatoires d'un ou des deux reins, toutes maladies rénales.

**Oestrogénique** : relatif à l'œstrogène, hormone sécrétée par l'ovaire, impliquée dans le développement des caractères sexuels féminins et dans la régulation du cycle menstruel.

**Rhumatismes** : toute affection douloureuse, aiguë ou le plus souvent chronique, qui gêne le bon fonctionnement de l'appareil locomoteur.

**Sciatique** : douleur irradiant le long du trajet du nerf sciatique (qui naît de la réunion de deux racines issues de la moelle épinière) et ou de ses racine.

**Sédatives** : qui calme l'organisme, calment.

**Sudorifique** : qui provoque la transpiration cutanée.

**Spasmolytique** est un produit permettant de lutter contre les spasmes musculaires.

**Stimulantes** : qui incite encourage substance propre à accroître l'activité.

**Stomachique** : qui facilite la digestion gastrique.

**Tonique** : qui fortifie, affermit, médicament qui fortifie.

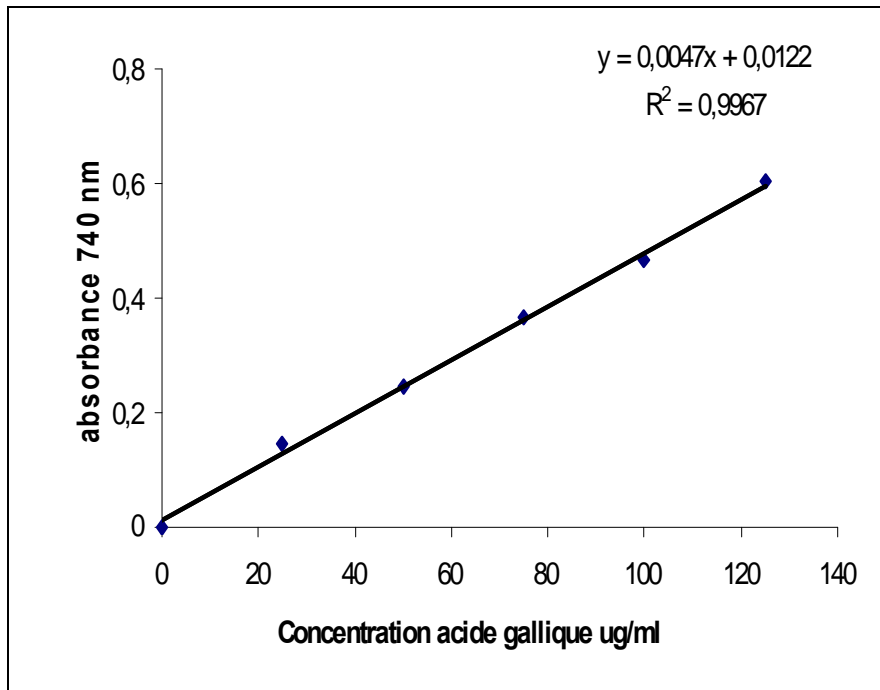
**Vermifuge** : médicament destiné à débarrasser l'Homme et les animaux des vers parasites tels que les ténias, les ascaris, les oxyures, les trichines, les douves, les trichocéphales, les schistosomes et les filaires. Ce type de médicament agit en attaquant les systèmes neuromusculaire ou respiratoire des parasites, en interférant avec leur métabolisme ou en les rendant plus sensibles aux attaques des macrophages de l'hôte.

**Annexe 1: Matériels et réactifs utilisés.**

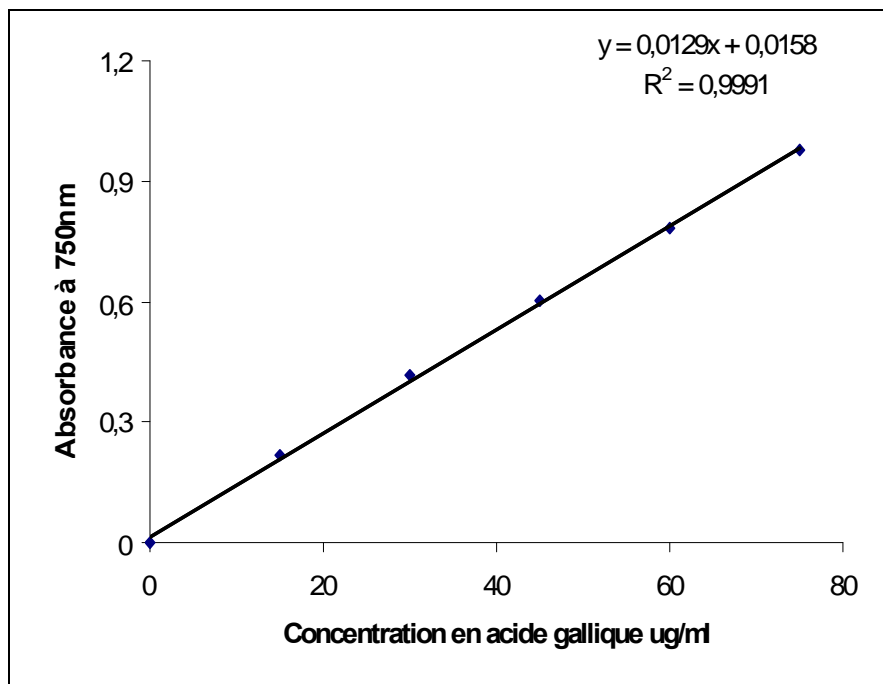
<b>Matériels</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic)</li><li>- Bain marie (MEMMERT).</li><li>- Centrifugeuse (PHYWE).</li><li>- Etuve ventilée (BINDER, MEMMERT, BD53).</li><li>- pH mètre (HANNA pH 210).</li><li>- Plaque magnétique (PHYWE).</li><li>- Spectrophotomètre UV-VIS (SHIMADZU 1240 MINI) relié à un ordinateur.</li><li>- Balance de précision (BP 310 P).</li><li>- Tamis (RETSCH).</li></ul>

<b>Réactifs</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Méthanol pur 99% (PROLABO).</li><li>- Réactif de Folin-Ciocalteu (2 N) (Sigma).</li><li>- Carbonate de sodium (PROLABO).</li><li>- Acide gallique, acide tannique et quercétine. (Sigma).</li><li>- Chlorure ferrique <math>FeCl_3</math> (PROLABO).</li><li>- Trichlorure d'aluminium (<math>AlCl_3</math>) (PROLABO).</li><li>- NaCl ; NaOH, (PROLABO).</li><li>- <math>NaH_2PO_4</math> (PROLABO).</li><li>- <math>Na_2HPO_4</math> (PROLABO).</li><li>- TEA (PROLABO).</li><li>- SDS (PROLABO).</li><li>- HCl 36% (PROLABO).</li><li>- Acide acétique glaciale (PROLABO).</li><li>- Acide citrique (PROLABO).</li><li>- BSA (FISHER LABOSI).</li><li>-Gélose nutritive.</li><li>-Milieu Chapman.</li><li>-Milieu Muller Hinton.</li><li>- Milieu EMB.</li></ul>

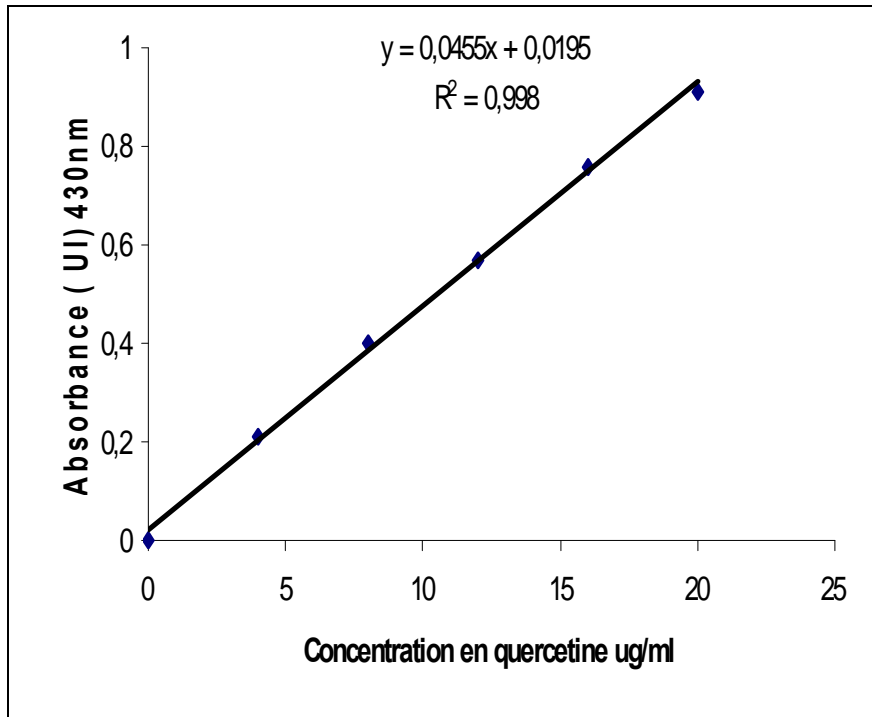
Annexe 2: Courbes d'étalonnage utilisées pour le dosage des composés phénoliques.



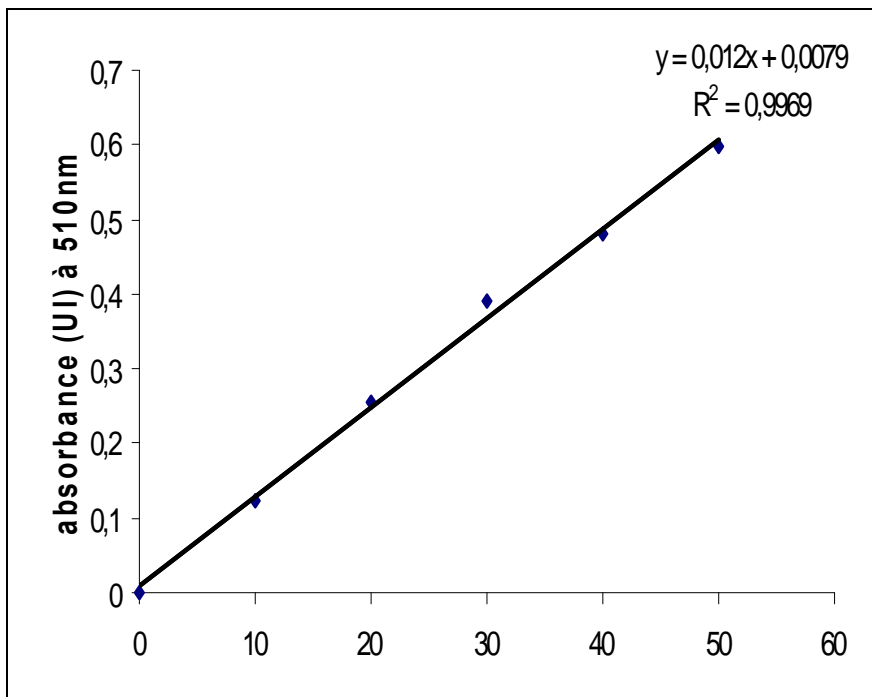
**Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.**



**Courbe d'étalonnage des polyphénols polaires.**



**Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.**



**Courbe d'étalonnage des tannins.**

**Annexe 3 : Préparation des solutions**

<b>Solutions</b>	<b>Préparation des solutions</b>
Tampon A (acétate).	2 mM d'acide acétique 170 mM de NaCl pH ajusté à 4,9 avec du NaOH
Tampon SDS/TEA	5% de triéthanolamine (v/v). 5% SDS (W/v). pH ajusté à 9,4 avec du HCl.
Solution de BSA (dosage des tanins).	1 mg/mL de BSA dissoute dans le tampon acétate. Stockée à 4°C.
Chlorure Ferrique.	0,01 N de HCl 10 mM de FeCl <sub>3</sub>
Tampon Phosphate.	0,03 g de Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,058 g de KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ajusté à 1 L avec de l'eau distillée (pH 6,9).
Solution de BSA (interaction).	1 mg/mL de BSA dissoute dans le tampon Phosphate. Stockée à 4°C.

**Annexe 4 : Résultats du test d'humidité.**

<b>Les plantes utilisées</b>	<b>Taux moyen d'humidité (%) (m/m)</b>	<b>Temps de séchage (jours)</b>
<i>Apuim gravelons</i>	82,32±0,012	06
<i>Coriandrum sativum</i>	80,86±0,058	06
<i>Laurus nobilis</i>	47,1±0,432	04
<i>Mentha piperita</i>	88,69±0,314	08
<i>Petroselinum sativum</i>	81,8±0,310	06



**Annexe 5 : Résultats des dosages de différentes classes de composés phénoliques des différents extraits.**

<b>Les plantes utilisées</b>	<i>Apuim gravelons</i>	<i>Coriandrum sativum</i>	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Petroselinum sativum</i>
<b>Polyphénols totaux</b> mg EAG/g de MS.	165,78 ± 0,143	70,48±0,120	354,89±0,286	309,42±0,050	169,87±0,137
<b>Polyphénols polaires</b> En mg EAG/g de MS.	95,76±0,133	47,22±0,188	201,89±0,151	206,22±0,069	112,2±0,170
<b>Polyphénols apolaires</b> en mg EAG/g de MS.	70,02±0,021	23,26±0,133	153±0,697	103,2±0,108	57,67±0,128
<b>Flavonoïdes totaux</b> en mg EQ/g de MS.	49,17±0,335	48,64±0,197	38,84±0,176	48,1±0,077	79,01±0,120
<b>Tannins</b> en mg EAT/g de MS.	6,21±0,121	1,67±0,043	25,39±0,269	24,32±0,017	4,76±0,287

## Résumé

Dans la présente étude cinq plantes médicinales locales ont été étudiées : *Apium graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Laurus nobilis*, *Mentha piperita* et *Petroselinum sativum*, les résultats obtenus montrent que le taux d'humidité varie de 47,1 (*L. nobilis*) à 88,69% (*M. piperita*), le rendement d'extraction des polyphénols varie de 30 (*P. sativum*) à 42% (*M. piperita*). La teneur en différents composés phénoliques est de : 70,48 (*C. sativum*) à 354,89 mg EAG/g MS (*L. nobilis*) en polyphénols totaux, celle des polyphénols polaires varie de 47,22 (*C. sativum*) à 206,22 mg EAG /g MS (*M. piperita*) qui est supérieur à celle des polyphénols apolaires qui varie de 23,26 (*C. sativum*) à 153 mg EAG /g MS (*L. nobilis*), la teneur en tanins varie de 1,67 (*C. sativum*) à 25,35 mg EAT/g MS (*L. nobilis*), quant à la teneur en flavonoïdes varie de 38,84 (*C. sativum*) à 79,01mg EQ /g MS (*P. sativum*). L'étude de l'interaction entre les polyphénols des extraits et la protéine BSA a révélée qu'elle est fortement influencée par : la concentration en extraits de plante, la concentration en NaCl, mais aussi par la variation du pH. Les tests évaluant l'activité antioxydante totale des extraits montrent que toutes les plantes présentent un pouvoir réducteur important, et une activité antiradicalaire significative (DPPH). Les extraits méthanoliques montrent aussi une activité antibactérienne variée vis à vis des souches testées dépendante de l'extrait de plante et de la souche bactérienne.

**Mots clés :** Plantes médicinales, polyphénols, interactions protéines–polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## Abstract

In the present study five local medicinal plants have been studied: *Apium graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Laurus nobilis*, *Mentha piperita* and *Petroselinum sativum*, the results obtained show that the rate of humidity varies between 47,1 (*L. nobilis*) to 88,69% (*M. piperita*), the yield of polyphenols extraction varies between 30 (*P. sativum*) to 42% (*M. Piperita*). The content of different phenolic compounds is: 70,48 (*C. sativum*) to 354,89 mg EAG/g DM (*L. nobilis*) of polyphenols, the one of the polar polyphenols varies between 47,22 (*C. sativum*) to 206,22 mg EAG /g DM (*M. piperita*) which is superior to the one of polyphenols apolaires which varies between 23,26 (*C. sativum*) to 153 mg EAG /g DM (*L. nobilis*), content in tannins varies of 1,67 (*C. sativum*) to 25,35 mg EAT/g DM (*L. nobilis*), as for the content of flavonoides is varies of 38,84 (*C. sativum*) to 79,01mg EQ /g DM (*P. sativum*). Study of interaction between polyphenols and proteins is influenced strongly by the concentration in extracts of plants, and as well as by the concentration in NaCl, but also by the variation of the pH. Tests valuing the total antioxidant activity of extracts show that all plants present an effective reducing power and DPPH free radical scavenging activity. Methanolic extracts show also antibacterial activity which depended on spices and extracts tested.

**Keywords:** Medicinal plants, Phenolics compounds, Polyphenol-protein interaction, antioxidant activities, Antibacterial activity.

## المخلص

في هذه الدراسة خمس نباتات طبيعية أختيرت: كرفس، قصبير، رند، نعناع، و المعدنوس، نتائج نسبت الرطوبة المتحصلة تتراوح بين 47,1 (رند) إلى 88,68 (نعناع)، مردود إستخلاص عديدات الفينولات هو 30 (معدنوس) إلى 42 (رند)، كمية الفينولات الكلية تتراوح ما بين 70,48 (قصبير) إلى 354,89 مغ/غ (رند)، كمية الفينولات المحبة للماء تتراوح بين 47,22 (قصبير) إلى 206,22 مغ/غ (نعناع) التي أظهرت نسبة أكبر من الفينولات الكارهة للماء، التي تتراوح بين 23,26 (قصبير) إلى 153 مغ/غ (رند)، أما كمية الفينولات البسيطة تتراوح بين 38,84 (قصبير) إلى 79,01 مغ/غ (معدنوس). هذه الدراسة بينت أن تشكل مركبات بين المكونات الفينولات لهذه النباتات و بروتين المصل البقري يتأثر بتغيير عامل من عوامل الوسط التفاعلي، منها نجد تأثيره بتراكيز المستخلص النباتي، تغيير تركيز الملح، و أيضا بتغيير حمض الوسط التفاعلي. هذه الدراسة أظهرت أيضا قوة الإرجاع و قوة تثبيط الجذر الحر (DPPH)، هذه المستخلصات بيت أيضا فعاليته ضد البكتريا المدروسة و هذه الفعالية ترجع إلى نوعية المستخلص و البكتريا المستعملة.

**مفتاح الكلمات:** نباتات الطبية، متعددات الفينولات، تجاذب الفينولات، بروتينات، القوى المضادة للأكسدة، قوى ضد البكتريا.

