



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : BEN CHOHR NAJOUA

DOMAINE : Sciences et Technologies

FILIERE : Génie des procédés

OPTION : Génie des procédés de l'environnement

Thème

**Activités antioxydantes des extraits
phénoliques de *Thymelaea Hirsuta.L.* Région
*AFLOU***

Jury de soutenance:

Nom et Prénom	Grade	Qualité
ZERROUKI Hamza	MCA	Président
MECHRAOUI Omar	MCA	Examineur
GUENANE Hadjira	Pr	Rapporteur
DJEKIDEL Elallia	Doctorante	Co-rapporteur

Promotion: JUIN 2025

Remerciement

*Avant tout nous tenons à remercier le bon Dieu, le tout
puissant pour*

*La volonté, la santé, le courage et la patience qu'il nous a
donné pour la*

Réalisation de ce modeste travail.

*Nos sincères remerciements aux Mademoiselle
GUENANE Hadjira qui en tant que promotrice de
mémoire qui a fait preuve d'une grande patience et qui a
été d'une grande aide dans la réalisation et le succès de ce
travail. Ses conseils utiles, ses orientations nous ont permis
de mener à terme ce projet.*

*Et Mlle. DJEKIDEL Alia d'avoir acceptées de diriger ce
travail.*

*Je tiens à remercier les membres du comité de discussion
d'avoir discuté de ma thèse avec amour et appréciation*

Merci pour la confiance.

*Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de
loin à la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions aussi Nos familles, nos proches et nos
camarades.*

Dédicace

Je tiens C'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

À ma mère et mon père.

La prunelle de mes yeux... et mon chemin vers le paradis...

*Ô Allah, aidez-moi à leur être dévoué, accorde-moi leur satisfaction et
comble-les de bien et de pardon.*

Ô Généreux, Ô Très-Affectueux

À l'être le plus cher de ma vie, ma mère pour son amour, ses

Encouragement et ses sacrifices

*Celui qui m'a fait de moi une femme, mon père pour son soutien, son
affection*

Et la confiance qu'il m'a accordé

*À mes chers frères et sœurs, soutenez-moi malgré mes échecs et mes
défaites... À ceux qui ont cru en moi et ont vu le meilleur dans leurs yeux et
leurs cœurs à notre première petite-fille, asinat Rahma*

Sommaire

<i>Remerciement</i>	
<i>Dédicace</i>	
<i>Sommaire</i>	
Résumé	
Liste des tableaux	
<i>Liste des abréviations</i>	
Introduction Générale.....	1

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I : Présentation de la Plante Médicinale « *thymelaea hirsuta* »

I.1- Présentation de thymelaea	5
I.2- Les propriétés médicinales de thymelaea	5
I.3. La famille de Thymelaeaceae	7
I.4- Description botanique	7
I.5- Etude botanique sur le thymelaea	8
I.6- Propriétés chimiques.....	9
I.6.1.-Propriétés thérapeutiques	8
I.7-Toxicité	10

CHAPITRE II : Métabolites Secondaires

II.1- Les métabolites secondaires des plantes.....	12
II.2- Activités antioxydantes.....	12

II.3- Les composés phénoliques.....	13
II.4- Structure chimique.....	14
II.5- Flavonoïdes.....	14
II.5.1-Composés terpénoïdes.....	13
II.5.2- Les stérols	14
II.5.3- Acide phénolique	16
II.5.4-Coumarines	16
II.5.5- lignans	17

CHAPITRE III : Partie Expérimentale

III.1-Méthodes de Travail	19
III.2-Produits Chimiques et Instruments.....	20
III.3. Matériel végétal.....	21
III.3.1-L'extraction des composés phénoliques.....	21
III.4. Analyse quantitative.....	21
III.4.1. Dosage de polyphénols totaux.....	23
III.4.2. Dosage de flavonoïde.....	23
III.4.3. Évaluation de l'activité antioxydante.....	24
III.4.3.1 Test de piégeage du radical libre DPPH.....	25
III.4.3.2.Test de Phosphomolybdate.....	26
III.4.3.3 Test de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power).....	27
III.4.3.4 Test l'ABTS.....	29

CHAPITRE IV : Résultats & Discussions

IV.1-Résultats et Discussions.....	31
IV.1.1. Dosage de polyphénole totaux.....	31
IV.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	31

IV. Evaluation de l'Activité Antioxydant.....	32
IV.2.1. Test de DPPH.....	32
IV.2.2. Test de Phosphomolybdate.....	33
IV.2.3. Test Pouvoir Réducteur: FRAP (Ferric Reducing AntioxydantPower).....	33
IV.2.4. Test ABTS.....	34
Conclusion générale.....	36
Références Bibliographiques.....	38
Annexes.....	43
Résumé	

Liste des figures

CHAPITRE I : Présentation de la Plante Médicinale « thymelaea hirsuta »	
Figure 1: thymelaea hirsuta	5
Figure 2 : Quelques espèces des Thymelaeaceae.	8
CHAPITRE II : Métabolites Secondaires	
Figure 3 : Structures des Flavonoïdes isolés de l'espèce T-hirsuta.	15
Figure 4 : Structures des terpenoïdes isolés de l'espèce T-hirsuta	16
Figure 5 : Classification des composés phénoliques.	16
Figure 6 : Structures de coumarines isolées de l'espèce T- hirsuta.	18
Figure 7 : Structures des lignans isolés de l'espèce T- hirsuta.	19
CHAPITRE III : Méthodes de Travail	
Figure 8 : Organigramme Expliquant les Différentes étapes dans notre travail	21
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	25
Figure 10 : la structure de flavonoïde	25
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la rutine.	26
Figure 12 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• (Ganther, 1999)	27
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	29
Figure 14 : Réaction d'un antioxydant avec le FRAP (Bassène, 2012)	30

Liste des tableaux

CHAPITRE I : Présentation de la Plante Médicinale « <i>thymelaea hirsuta</i> »	
Tableau 1 : Classification de la plante <i>thymelaea hirsuta</i>	5
CHAPITRE II : Métabolites Secondaires	
Tableau 2 : Structures des stéroles isolés de l'espèce T- <i>hirsuta</i> .	17
Tableau 3 : Structures de coumarines isolées de l'espèce T- <i>hirsuta</i> .	18
CHAPITRE III : Méthodes de Travail	
Tableau 4 : Produits les instruments	23
CHAPITRE IV : Résultats & Discussions	
Tableau 5 : Teneurs en phénols totaux and flavonoïdes	33
Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes	34
Tableau 7 : valeurs des IC ₅₀ trouvées pour l'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i> de test de DPPH	35
Tableau 8 : valeurs VCEAC de l'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i> d'étudié par le test du Phosphomolybdate	36
Tableau 9 : Valeur VCEAC de l'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i> pour le test de FRAP	36
Tableau 10 : valeurs des IC ₅₀ trouvées de l'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i> et TROLOX étudié pour l'ABTS	37

Liste des abréviations

A· : radical

A_{bs} : Absorbance

ABTS: 2, 2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)

A_{control}: l'absorbance du milieu réactionnel sans l'antioxydant

AH : donneurs d'hydrogènes

A_{test} : l'absorbance du milieu réactionnel avec l'antioxydant

BHA : butylatedhydroxyanisole

BHT : butylhydroxytoluene

C₄H₈O₂ : acétate d'éthyle

C₇H₆O₅ : acide gallique

DPPH : 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EAG/gMS : Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.

ER/g MS : Equivalent de rétine par gramme de Matière Sèche

FRAP : ferric2, 4, 6-tripyridyl-s-triazin

H₂SO₄ : Acide sulfurique

H₃PMO₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungestique

H₈MoN₂O₄ : Molybdate d'ammonium

IC₅₀ : la concentration de l'extrait exprimée nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH.

IP (%) : pourcentage d'inhibition

Mo (V) : molybdène (V)

Mo (VI) : molybdène (VI)

MO_8O_{23} : molybdène

Na_2CO_3 : carbonates de sodium

Na_3PO_4 : phosphate de sodium

P_0 : poids initial de poudre végétale exprimé en gramme.

P_1 : poids de l'extrait sec exprimé en gramme.

PI (%) : pourcentage d'inhibition

TROLOX : 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acide

UV/Vis : Ultra- violet visible

VCEAC : comme la concentration molaire de la solution de vitamine C

W_8O_{23} : bleus de tungstène

% : Pourcentage



Introduction
Générale

Depuis des milliers d'années l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement (Athamena, 2009). Il utilise les ressources végétales pour l'alimentation et la confection d'autres biens de consommations nécessaires à l'utilisé aux sociétés (Sato et al., 2001) et près de 80% de la population dans le monde, a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (Benaissa, 2011). Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák et al., 2007). Recourt à la médecine traditionnelle. Cette pratique répond à leurs besoins pour lesquelles la majeure partie des thérapies implique l'exploitation de principes actifs de ces plantes (Biyiti et al., 2004 ; Newmann et Cragg, 2007 ; Oyedemi et Afolayan, 2011). Ces dernières produisent une large gamme de composés phytochimiques. Selon les statistiques récentes, les deux tiers des gammes de composés phytochimiques. Selon les statistiques récentes, les deux tiers des médicaments actuels commercialisés sont d'origine naturelle (Morel, 2011). Ils ont été obtenus par héli-synthèse à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels ; composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul

Un tiers des médicaments possède donc une origine purement synthétique (Verpoorte et al., 2002). Autrement dit, environ 60% des médicaments anticancéreux et 75% des composés destinés pour le traitement des maladies infectieuses sont des produits naturels ou leurs dérivés (Yangthong et al., 2009 ; Kilani-Jaziri et al., 2011). De plus, parmi les 300 000 espèces végétales recensées, seulement 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, parmi lesquelles 6% ont fait l'objet d'examen de leurs activités biologiques (Oyedemi et Afolayan, 2011). Ces informations semblent justifier que les plantes constituent des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions

enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Deux groupes de métabolites ont été distingués, primaires et secondaires (Hartmann 2007). Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Quant

aux métabolites au XIXème siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement. Aujourd'hui, les agents antioxydants de source naturelle ont suscité un intérêt particulier, car ils peuvent protéger le corps humain contre les maladies causées par les radicaux libres sans effets secondaires ; ceci est contraire aux agents antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroquinone tertiaire (BHQT) largement commercialisés dans l'industrie alimentaires. Leur application provoquent un potentiel risque en toxicité pour la santé humaine. En outre, ils peuvent provoquer des maladies cancérogène, mutagène (Laouini, 2014). *Thymelaea hirsuta* est une espèce méditerranéenne assez commune dans toute l'Algérie et tout spécialement sur le littoral (Quezel et Santa, 1962). C'est un arbrisseau de la famille des Thyméléacées, appelée aussi Passerine hirsuta ou mundulacciu en Corse. Le choix des Thymelaeaceae comme sujet du présent travail a été guidé par les nombreuses utilisations traditionnelles, mais aussi basé d'une part, sur l'abondance de plantes médicinales en Algérie et d'autre part cette plante demeure inconnue.

Dans notre étude, nous présentons les intéressés d'étude quantitative des composés phénoliques et des flavonoïdes, l'étude de l'activité antioxydant de *thymelaea hirsuta*, Ce mémoire est subdivisé de deux parties principales :

La première partie est consacré à une synthèse bibliographique, qui constitué de deux chapitres l'un sur les métabolites secondaires et l'autre sur la plante étudiée (*thymelaea hirsuta*).

Dans la deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui comporte :

- L'extraction des polyphénols par macération.
- Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes.
- Évaluation de l'activité antioxydante, par le piégeage du radical libre DPPH, ABTS, FRAP et Phosphomolybdate

Enfin, nous présenterons les résultats obtenus et leur discussion. Une conclusion résumera l'ensemble du travail réalisé.



**Synthèse
Bibliographique**

CHAPITRE I :

Présentation de la Plante Médicinale

« *thymelaea hirsuta* »

I.1- Présentation de thymelaea :

La famille des Thymelaeaceae comprend environ 500 espèces d'arbres et arbustes, généralement toxique. Elle est répartie dans toutes les régions tempérées et tropicales de planètes (Borri et Blasko, 1988). Les membres de cette famille sont répartis particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids. Les thymelaeaceae sont réputées toxiques par leur teneur en esters de terpéniques de type tiglane ou daphnane, composés qui ont une distribution restreinte à deux familles seulement les Thymelaeaceae et les Euphorbiaceae (Farnsworth et al., 1986).



Figure 1 : thymelaea hirsuta

I.2- Les propriétés médicinales de thymelaea :

Thymelaea est une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle. Les principales propriétés citées dans la bibliographie consultée sont indiquées dans le tableau 01 : Classification de la plante thymelaea hirsuta

Organes étudiés	Molécules extraites	Références
Feuilles	Thyméol ((C ₃ H ₂ O) n)	Saleh et al., 1965
	Stigmasterol, β-Sitosterol, Alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, Lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆	Gharbo et al., 1970
	Alcanes en C ₂₇ à 31, alcanols en C ₂₂ , 24, 26 Et 28, β-Sitostérol et	Rizk et al., 1974

CHAPITRE I : Présentation de la Plante Médicinale « thymelaea hirsuta »

	Campestérol	
	Daphnorine, Daphnorétine, Daphnine, Daphnéline, Daphnéline- glucoside, Ombelliférone ,Scopolétine et Esculétine (Coumarines)	Rizk et al., 1975
	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar et al., 1977
	Tiliroside(3-p- coumaroylglucosylkaempférol) (Flavanol)	Ismail, 1978
	Lupéol, β -Sitostérol, Phytol, β - amyrine, Bétuline,Erythrodiol, Cholestérol et Lanostérol	Garcia-Granados et Saenz De Buruaga, 1980
	Tanins	El-Beheiry, 2000
Feuilles et Brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy- résiniféronol	Rizk et al.,1984
	Gnidicine,Gniditrine, Genkwadaphnine, 12-O Heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7 Époxyrésiniféronol9,13,14- orthobenzoate et 12- Obutényl5-hydroxy-6,7- époxy-résiniféronol-9,13,14- Orthobenzoate (diterpènes daphnane)	Brooks et al., 1990
Racines	Daphnorétine(éther de dicoumaryl)	Abou-Karam et al., 1998

I.3. La famille de Thymelaeaceae :

Les Thymelaeaceae sont une petite famille de dicotylédones compose de quelque 1200 espèces réparties en 67 genres, Les membres de cette famille sont répandus dans les zones tropicales et empires de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids (Borris, R.P., Blasko, G., Cordelle, G.A. ; 1988).

I.4- Description botanique :

Thymelaea hirsuta est une plante vivace, arbustive (Akrouit, 2011) et haute de 60 à 90cm sa tige droite est divisée en plusieurs rameaux portant de nombreuses inflorescences en forme de petit capitule, chacun d'eux est formé de 3-15 fleurs jaunâtres de diamètres variables, et sont rassemblées par 2-5 en glomérules et regroupées en deux types : unisexuées et hermaphrodites. Elles sont petites 5mm environ. Les femelles ont un calice renflé, alors que chez les males est cylindrique. Les feuilles sont alternes, petites de 6mm environ, nombreuses, très rapprochées, ovales, aiguës presque imbriquées, vertes et glabres en dessus, blanches et cotonneuses à leurs faces inférieures. Les fruits de *thymelaea hirsuta* (Fig. 2) sont des baies glabres entourés d'un tube persistant et sont consommés par les animaux (Azza et Marnissi, 2012).



Thymelaea hirsuta L



daphne cneorum L



daphne laureola L



Daphne gnidium L



daphne mezereum L



thymelaea calycina

Figure 2 : Quelques espèces des Thymelaeaceae.

I.5- Etude botanique sur le thymelaea :

Systématique de la plante :

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida ou Dicotylédones

Sous classe : Rosidae

Règne : Végétale

Ordre : Malvales

Famille : Thymelaeaceae

Genre : *Thymelaea*

Espèce : *T. hirsuta* (L.) Endl., 1847

La position taxonomique des Thymelaeaceae a toujours été sujette à caution, comme l'ont relevé Borris et al. (1988), avant même l'avènement des classifications phylogénétiques moléculaires. Engler et Gilg(1924) ont d'abord placé cette famille dans le sous-ordre des Thymelaeineae, de l'ordre des Myrtiflorae, ensemble avec les Geissolomataceae, les Penaeaceae, les Oliniaceae et les Elaeagnaceae. Melchior (1964) et Wagenitz (1964), dans la 12ème édition du Syllabus der Pflanzenfamilien d'Engler, ont déplacé les Oliniaceae dans le sous-ordre des Myrtinae et élevé le reste des Thymelaeineae au rang d'ordre, sous l'appellation de Thymelaeales. Cet ordre a été validé par la suite par Gundersen (1950), avec cependant la ré-introduction des Oliniaceae, considérant également les Geissolomataceae comme faisant partie des Penaeaceae. Hutchinson (1967) supprime les Oliniaceae des Thymelaeales, mais y introduit les Nyctaginaceae et divise les Thymelaeaceae d'Engler en trois familles : Thymelaeaceae, Gonystylaceae et Aquilariaceae. Quant à Cronquist (1968), il inclut les Thymelaeaceae, les Penaeaceae, les Oliniaceae et dix autres familles dans l'ordre des Myrtales de la sous-classe des Rosidae. L'étude de la morphologie florale des Thymelaeaceae a mis en évidence la confusion régnant dans les relations taxonomiques au sein de cette famille (Heining, 1951). Il a été affirmé que les Thymelaeaceae peuvent être apparentées aux Tiliaceae ou aux Flacourtiaceae. Alors que les caractéristiques de morphologie pollinique ont amené à justifier que les Thymelaeaceae peuvent être très fortement apparentées aux membres crotonoïdes des Euphorbiaceae et aux Buxaceae, mais pas aux familles des

Celastraceae, Combretaceae, Dichapetalaceae, Elaeagnaceae, Flacourtiaceae, Penaeaceae, Proteaceae et Tiliaceae (Erdtman,1952).

I.6- Propriétés chimiques:

Plusieurs espèces de la famille des Thymelaeaceae contiennent, en diverses proportions, deux principes chimiques : la mézéréine, une substance résineuse d'un jaune brunâtre, de constitution encore inconnue, très vénéneuse, irritante, âcre, amère, drastique, vésicante et sternutatoire ; et la daphnine, un glucoside non vénéneux, à saveur amère, astringente (Fournier, P. ; 1999)

I.6.1.-Propriétés thérapeutiques :

L'antiquité utilisait déjà certaines propriétés médicinales des Thymelaeaceae. Des enquêtes ethnobotaniques ont montré que *T. lythroïdes* est très utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes. Il est traditionnellement utilisé en Tunisie comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension (Dohou, N., Khalid, Y., Najib, G., Idrissi, H. ; (2004).

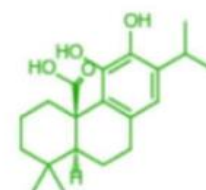
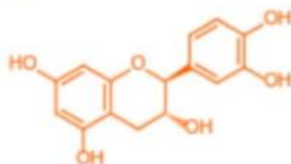
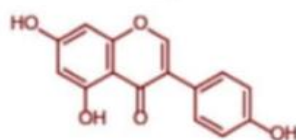
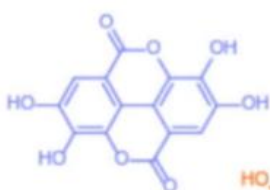
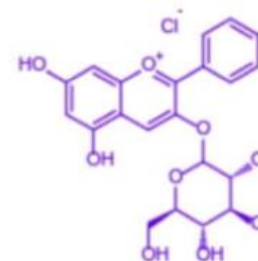
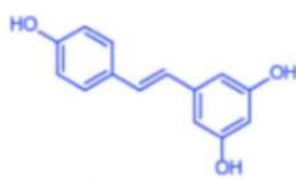
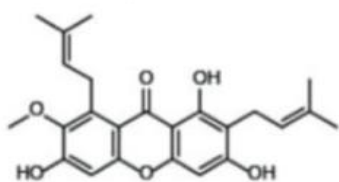
I.7-Toxicité :

La littérature médicale mentionne de nombreux empoisonnements dus à l'absorption de fruits de la famille Thymelaeaceae ou à l'emploi inconsidéré de leur écorce ou de leurs feuilles ; Il est même dangereux de tenir à la bouche un rameau fleuri, qui peut causer de graves inflammations de la bouche et de la cavité buccale. Des empoisonnements peuvent même suivre de simples applications externes, par suite de la résorption cutanée (Fournier, P. ; (1999). La famille contient des plantes très vénéneuses. Quelques espèces renferment des esters de diterpènes : La Daphnane et la tigliane qui sont responsables des propriétés irritantes de ces plantes. La toxicité des Thymelaeaceae est d'une importance économique considérable en dehors des dégâts qu'elle peut occasionner à l'industrie du bétail. En effet, de nombreux genres sont utilisés comme poisons de pêche en Europe, en Afrique, en Asie et dans les îles du Pacifique Asie. Relevons également que des cas d'empoisonnements humains criminels ont été rapportés, particulièrement en Afrique (Borris, R.P., Blasko, G., Cordelle, G.A. ; (1988).

CHAPITRE II:

Métabolites Secondaires

Polyphenols



II.1- Les métabolites secondaires des plantes :

Les plantes possèdent des métabolites secondaires par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore mal connus, ils semblent intervenir dans les relations qu'entretient la plante avec l'organisme vivant qui l'entourent. Ils sont des éléments essentiels de la coévolution des plantes et les organismes vivants. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Krief, 2003). La relation entre les métabolismes réside dans la production de petites molécules par le métabolisme primaire, constituant les molécules de départ pour les différentes voies du métabolisme secondaire (Bratt, 2000).

II.2- Activités antioxydantes :

La recherche de nouveaux antioxydants à partir de matières végétales a pris une très grande attention dans ces dernières décennies. L'utilisation des antioxydants synthétiques dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques est suspectée à long.

Terme d'effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes. Plusieurs limites et restrictions ont été mises en place concernant leur utilisation, leur substitution par des antioxydants naturels s'avère primordial. Les plantes sont une source des antioxydants naturels. Ces derniers sont apparus comme alternatifs aux antioxydants synthétiques, et ils sont aujourd'hui généralement préférés par les consommateurs (El - Kalamouni, 2010). Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Comhair et Erzurum, 2002). Les antioxydants sont des composés naturels ou synthétiques qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation et protéger le système cellulaire contre les effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, en particulier, ils stabilisent les radicaux libres et les empêchés de poursuivre leurs œuvres de destruction. Ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, où des agents de terminaison capables de dériver ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires.

D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel

acide gras. Ces entités neutralisent directement ou indirectement les dérivés nocifs actifs de l'oxygène. Néanmoins, l'organisme humain n'est pas capable d'assurer la biosynthèse de la plupart des antioxydants, notamment ceux de nature phénolique. Il doit donc les trouver dans son alimentation, leur existence est alors indispensable au bon fonctionnement de nos cellules (Madhavi et al., 1996 ; Rolland, 2004). Les dernières décennies ont connu une véritable explosion d'articles scientifiques sur les antioxydants naturels. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante. Ces méthodes se différencient entre elles en termes de mécanismes de réaction, substrat et antioxydant, états des réactions et la forme dont ils sont exprimés les résultats. Une meilleure compréhension de ces méthodes contribue à l'interprétation correcte des résultats.

II.3- Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Ils sont un groupe de nombreux composés carbonés cycliques dont la structure ne contient pas d'azote, (Richard et al. 2012) et ce sont des substances possédant un cycle aromatique avec au moins une fonction hydroxyle (Luttge et al., 2002). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (Macheix et al, 2005). Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert et al. 2005). En plus les composés phénoliques jouent soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très

Efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al, 2005).

II.4- Structure chimique :

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al, 2005). Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille (Stalikas, 2007), La structure chimique des polyphénols caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

II.5- Flavonoïdes :

Le terme "flavonoïde" désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont largement répandus dans le règne végétal et notamment dans les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes. Ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides. C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (TSIMOGIANNINS et OREOPOULOU, 2006), ce sont des pigments responsables à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Figure 03) (LUGASI et al., 2003).

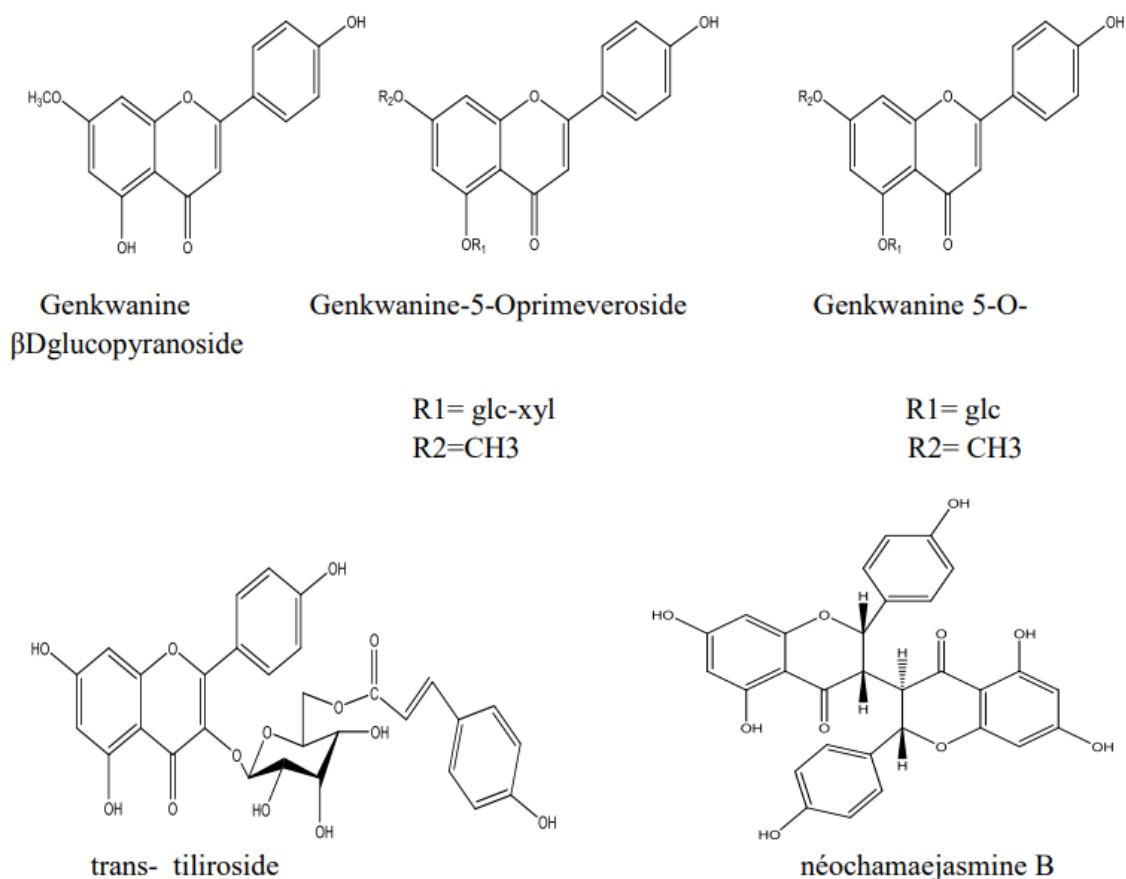


Figure 03 : Structures des Flavonoïdes isolés de l'espèce T-hirsuta.

II.5.1-Composés terpénoïdes :

Des travaux réalisés sur l'extrait de parties aériennes de T.hirsuta ont permis d'isoler deux nouveaux diterpénoïdes de la phnane, hirsein A (1) et hirsein B (2) (Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abd rabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H. (2009)

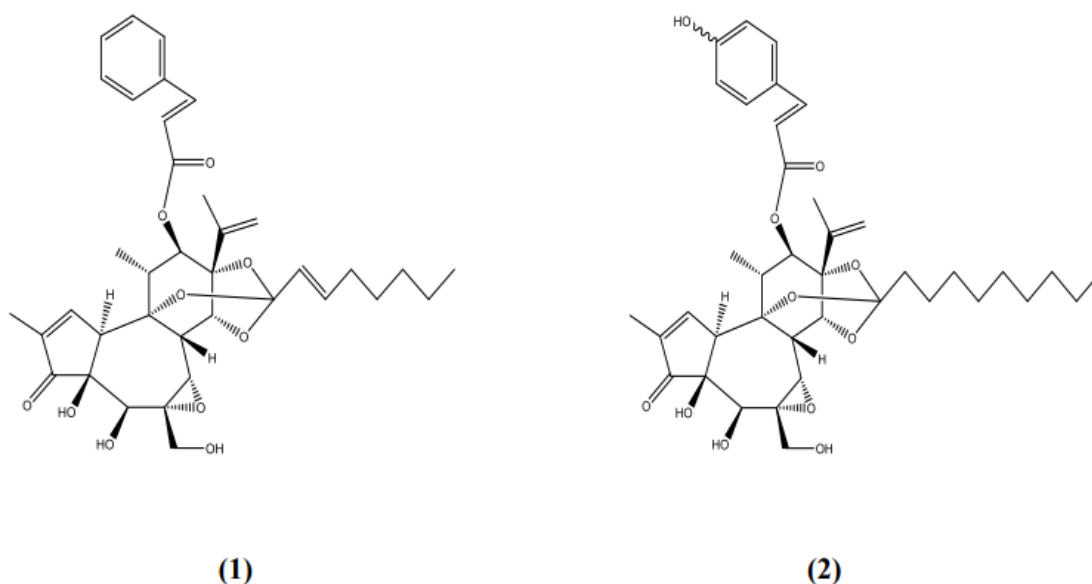


Figure 4 : Structures des terpenoides isolés de l'espèce T-hirsuta

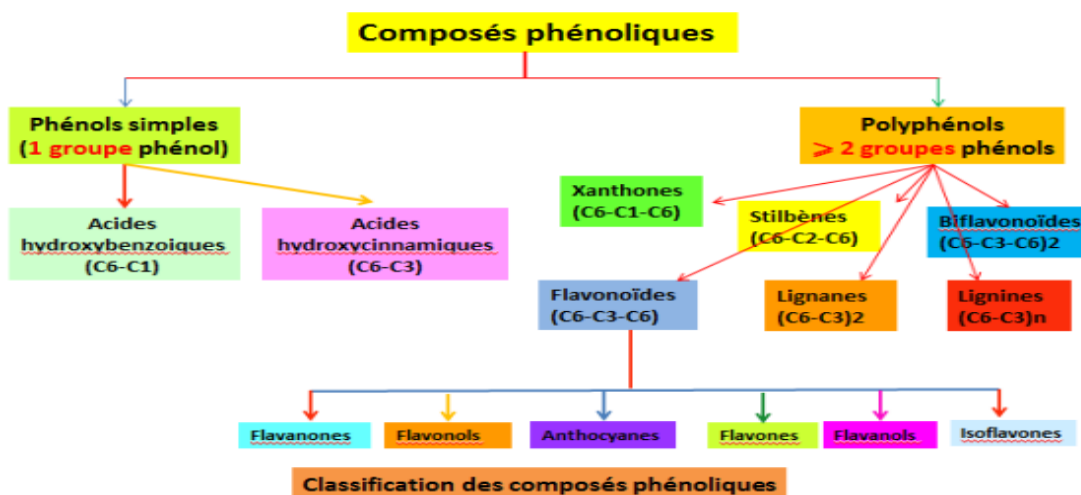


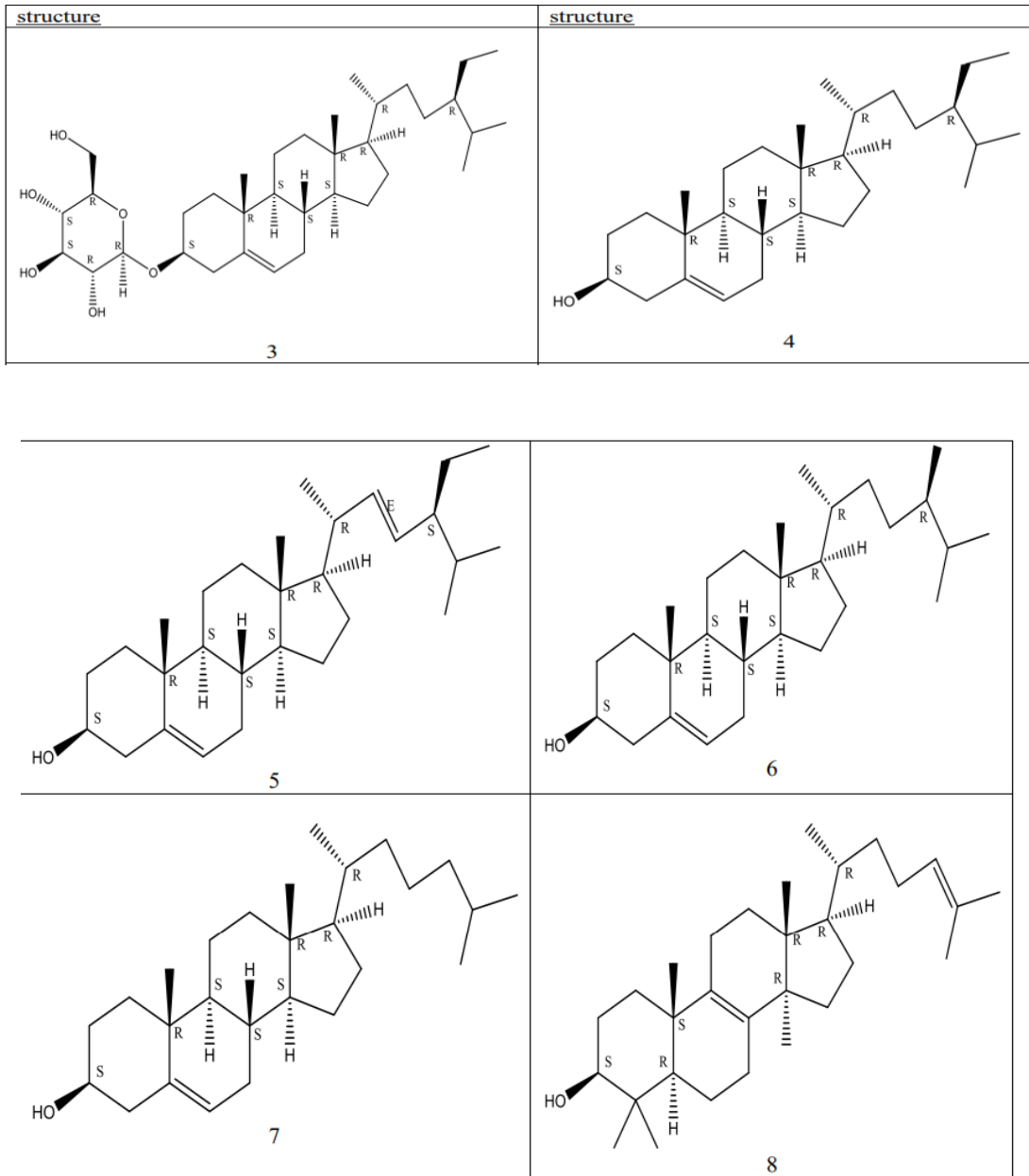
Figure 5 : Classification des composés phénolique.

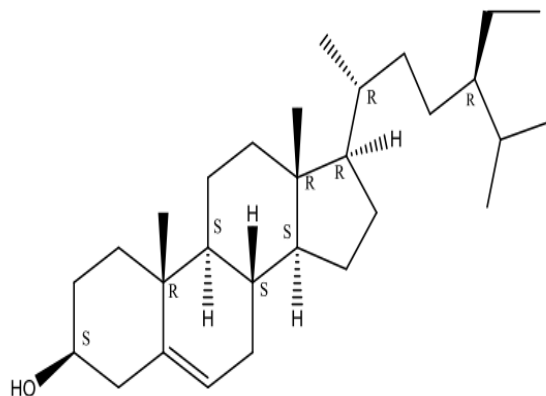
II.5.2. Les stérols :

D'autres études effectuées sur les feuilles et les fleurs de cette espèce ont permis d'obtenir sept composés stéroïdes à savoir : B-Sitosterol-3-O-glucoside

(Rizk, A.M., Rimpler, H. ; (1972)., B-sitosterol (4) (Gharbo, S.A., Khafagy, S.M., Sarg, T.M. ; (1970), Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3B,22E) (5) (Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I. ; (1974)., Campesterol (6)[39], Cholesterol (7) Lanosterol (8), Nimbosterol (9) (Spichiger., Rodolphe., Clément, C., Bastian, B. ; (2004)

Les composés répertoriés sont regroupés dans les tableaux suivants :





9

Tableau 2 : Structures des stérols isolés de l'espèce T- hirsuta.

II.5.3. Acide phénolique :

Des études réalisées sur les parties aériennes de l'espèce *Thymelaea hirsuta*. Ont permis d'isoler et d'identifier de nombreux composés d'acides phénoliques (rigui, M., Hsouna, A., Tounsi, S. : (2013)

II.5.4. Coumarines :

Les travaux antérieurs effectués sur cette espèce ont permis d'isoler les coumarines : le daphnorétine (23) et le triumbelletine (24) (Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abdrabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H. ; (2009)

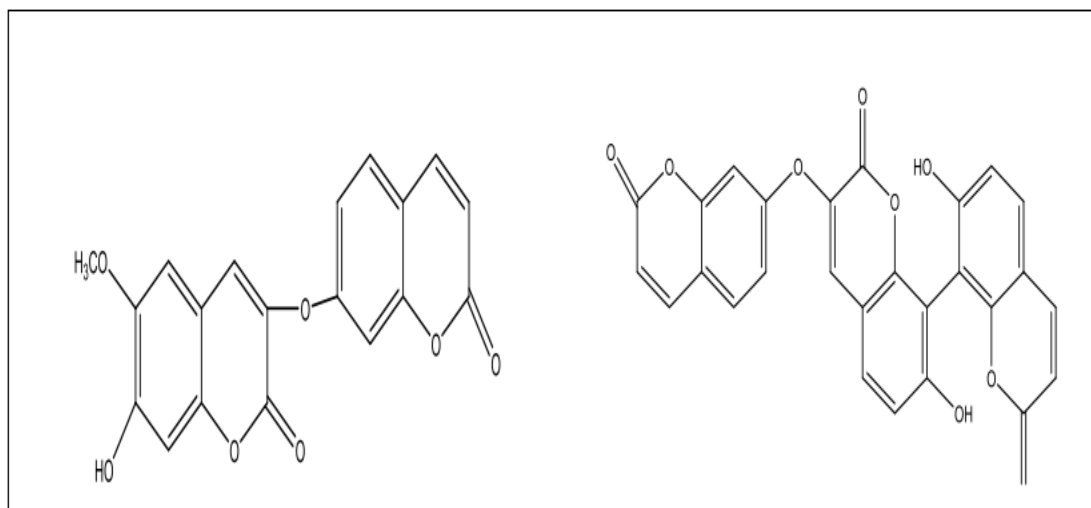


Figure 3 : Structures de coumarines isolées de l'espèce T- hirsuta.

II.5.5. lignans :

Une investigation de celle poussant en Egypte a permis la description de deux lignans : le pinorésinol (25) et le syringaresinol (26) (Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abdrabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H. ; (2009)

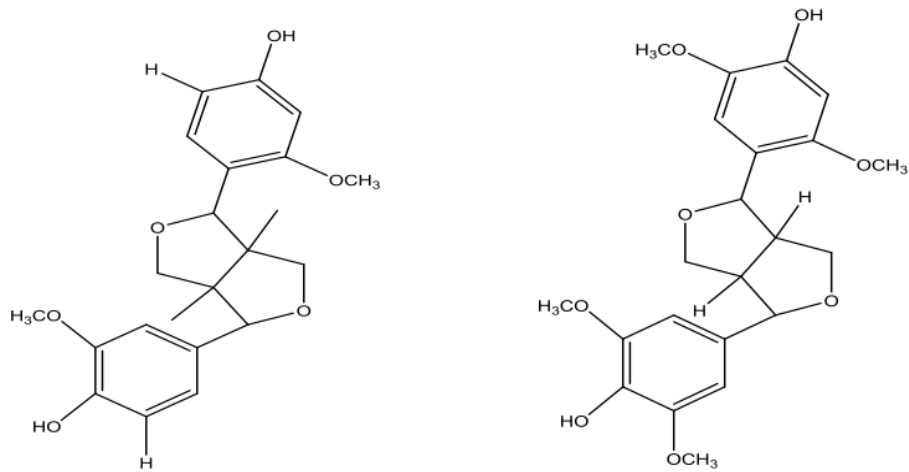


Figure 7 : Structures des lignans isolés de l'espèce *T- hirsuta*



CHAPITRE III :
Partie Expérimentale

III.1-Méthodes de Travail :

Notre travail de recherche est réalisé au niveau du laboratoire de Génie du Procédés au niveau d'université Ammar Thelidji-Laghout. D'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme illustré l'organigramme suivant :

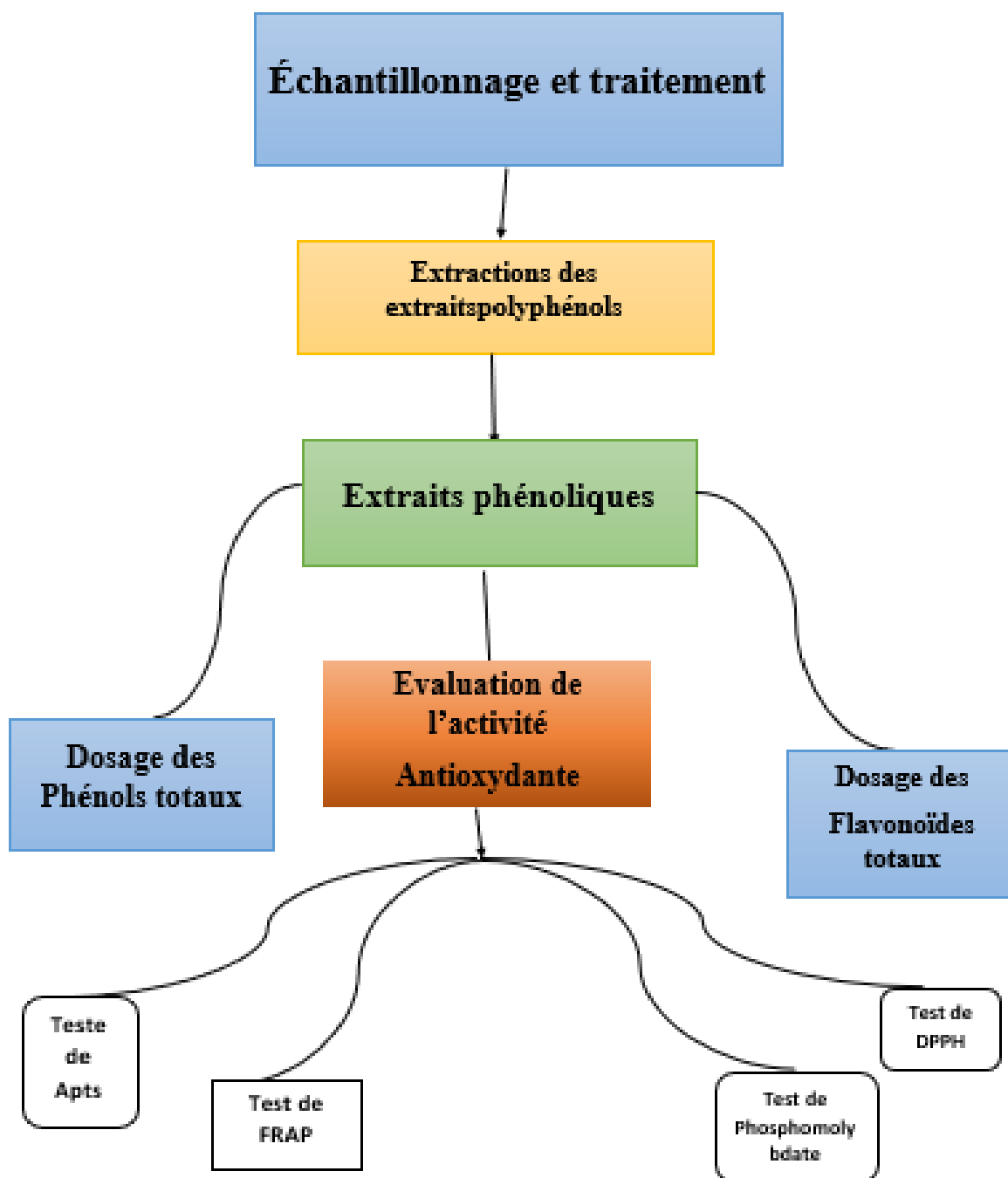


Figure 8 : Organigramme expliquant les différentes étapes dans notre travail

III.2-Produits Chimiques et Instruments :

L'ensemble des produits Chimiques Et Instruments utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le **Tableau (4)** suivant :

Tableau 4 : Produits et Instruments

Produit	Marque
Méthanol (CH ₃ -OH)	SIGMA-ALDRICH
Éthanol (C ₂ H ₆ O)	SIGMA-ALDRICH
Folin-Ciocalteu	SIGMA-ALDRICH
Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	SIGMA-ALDRICH
Hexane (C ₆ H ₁₄)	SIGMA-ALDRICH
Mono molybdate d'ammonium (NH ₄) ₂ MoO ₄	BIOCHEM
Acide ascorbique (vitamine C)	ANALARNORMAPUR
Rutine	SIGMA-ALDRICH
Chlorure d'aluminium (Al Cl ₃)	MERCK
DPPH (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆)	ALDRICH
Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	SIGMA-ALDRICH
Hexacyanoferrate de potassium (K ₃ [Fe(CN) ₆])	SIGMA-ALDRICH
Acide gallique	SIGMA-ALDRICH
Phosphate mono potassique (KH ₂ PO ₄)	SIGMA-ALDRICH
Phosphate di potassique (K ₂ HPO ₄)	SIGMA-ALDRICH
Chlorure ferrique (FeCl ₃)	BIOCHEM
Phosphate di sodique (Na ₂ HPO ₄)	SIGMA-ALDRICH
Acide trichloro acétique (C ₂ HCl ₃ O ₂)	SIGMA-ALDRICH
Instrument	Marque
Spectrophotomètre UV-vis	SHIMADZU
Etuve	Memmert
Balance électrique	KERNABS
Vortex	VELP
Moulin à café	Moulinex
micropipette	EASY
Bain-marie	Memmert
Micropipette	Socorex

III.3 Matériel végétal :

La plante *Thymelaea Hirsuta a* été récoltée en Janvier 2025 de la région d'Aflou à Laghouat, la partie aérienne (feuilles, fleurs, brindilles) de la plante a été nettoyée et séchée à température ambiante dans un lieu sec, à l'abri de la poussière et de la lumière. Les feuilles et les fleurs ont été séparées du reste de la plante et conservées jusqu'à l'extraction.

III.3.1-L'extraction des composés phénoliques :

Une quantité de 50 g de poudres de *Thymelaea Hirsuta e* a été mise en contact avec un système de solvant (hexane/méthanol) aux proportions (30/70) (v/v) dans un bécher en utilisant une plaque d'agitation pendant 24 h. Après filtration, la solution de partie concernée est évaporée à sec à l'aide d'un rota vapeur. Le résidu sec pesé est reconstitué par le solvant correspondant (l'éthanol) et l'extrait obtenu est conservé dans de flacon ombré en verre dans un réfrigérateur à -4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

III.4 Analyse quantitative :

III.4.1 Dosage de polyphénols totaux :

La concentration en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1974**). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les poly-phénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

On met 100 µl d'extrait ou de l'acide gallique sont mélangés avec 200 µl du réactif Folin-Ciocalteu à 10 % et 2 ml d'eau distille, après 2 min on ajoute 1ml de Na₂CO₃ à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV-visible. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E). En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence.

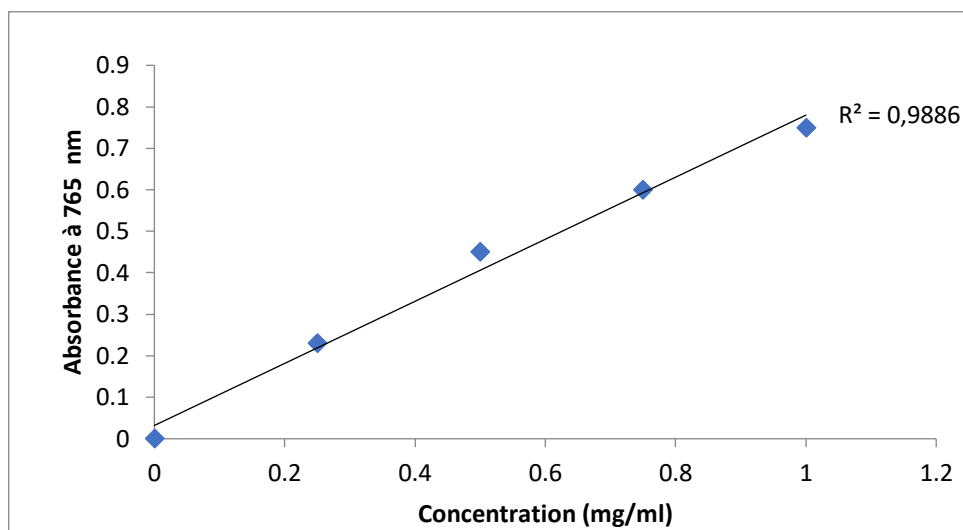


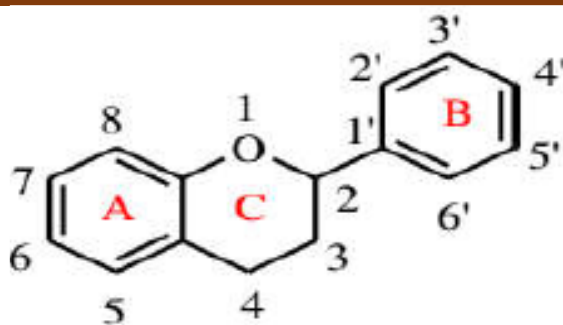
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

III.4.2. Dosage des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés dont la structure de base est C6-C3-C6 et sont constitués de deux noyaux aromatiques (Cycle A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (Cycle C), c'est le squelette de base des flavonoïdes (Erlund, 2004)

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de feuilles de *thymus capitatus* a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (méthode colorimétrique) (Bahorunet *al.*, 1996). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm.

Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la rutine. On met 1,5 ml d'extrait ou de rutine, avec 1,5 ml d' $AlCl_3$ à 3,6%, puis le mélange est vigoureusement agité, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard rutine (0- 0,05 mg/ml), et sont exprimées en milligramme de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g E).



Figuer 10: la structure de flavonoïde

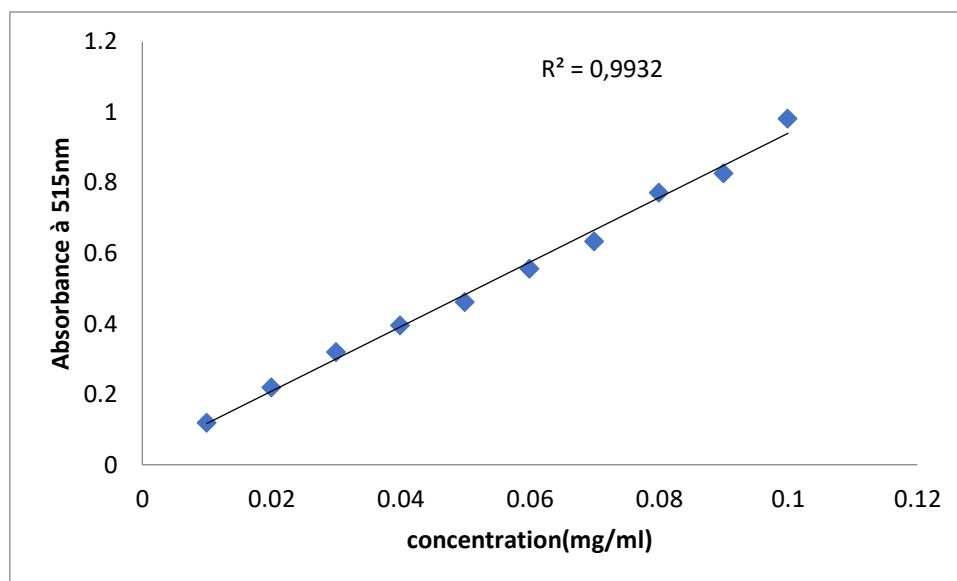


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

III.4.3 Évaluation de l'activité antioxydante :

Les méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou d'un mélange (l'extrait phénolique) sont nombreuses. Parmi lesquelles on a adopté les méthodes : la méthode de DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle), et la méthode de phosphomolybdate et la méthode de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power).

III.4.3.1 Test de piégeage du radical libre DPPH :

a. Principe:

Cette méthode mesure la capacité réductrice d'un antioxydant (composés phénoliques dans notre cas), la réduction du radical libre DPPH[•] s'accompagne de la diminution de la coloration violette qui peut être suivie par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm.

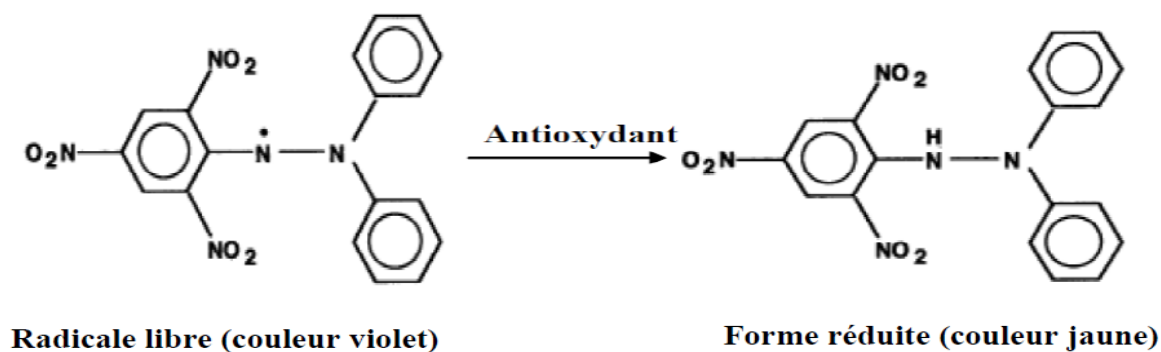


Figure 12 : Réduction de radical libre DPPH[•] en présence d'antioxydant

Le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) à température ambiante et en solution, présente une coloration violette intense. Le passage à la forme non radicalaire s'accompagne du changement de cette coloration.

b. Mode opératoire

- Nous avons préparé une solution de DPPH (0,024 mg/ml) par solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol (La valeur d'absorbance doit être comprise entre 0,7 et 0,8. Si la valeur d'absorbance est supérieure à 0,8 la solution est diluée avec du méthanol).
- Les tubes de dosages contiennent 200µl de différentes concentrations de l'extrait ou de l'acide ascorbique et 1,800 ml de solution de DPPH.
- Le mélange est laissé à l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes et mesurée à 517 nm.

c. Expression des résultats:

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée dans le protocole suivant. Dans des tubes on introduit 200µl de chaque extrait de truffe et 1.8ml de la solution méthanoïque au DPPH, après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm (**Brand-Williams et al., 1995**).

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité antiradicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$PI (\%) = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

PI(%) : pourcentage d'inhibition

A_{control}: l'absorbance du milieu réactionnel sans l'antioxydant

A_{test} : l'absorbance du milieu réactionnel avec l'antioxydant

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'**IC₅₀**, sachant que l'**IC₅₀** est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

III.4.3.2 Test de Phosphomolybdate :

a. Principe

La méthode de **Prieto et al.1999** a été employée pour évaluer la capacité réductrice des extraits phénoliques. Cette méthode est basée sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V) en présence de l'antioxydant.

Cette réduction, se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre à un pH acide détectable dans le visible à 695 nm.

a. Mode opératoire:

0,3 ml de chaque extrait de truffe dilué est ajouté à 3ml de la solution de réactif phosphomolybdique contenant le Molybdate d'ammonium (4 M), phosphate de sodium (28 mM) et l'acide sulfurique (0,6 M) préparé dans l'eau distillée. Le mélange a été placé dans un bain marie à une température 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement à une température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc contenant 0,3 ml d'éthanol mélangé avec 3 ml de réactif Phosphomolybdique. Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C ; les résultats sont exprimés comme (mmole de vitamine C) par g et la capacité réductrice exprimés en tant qu'équivalent de la vitamine C.

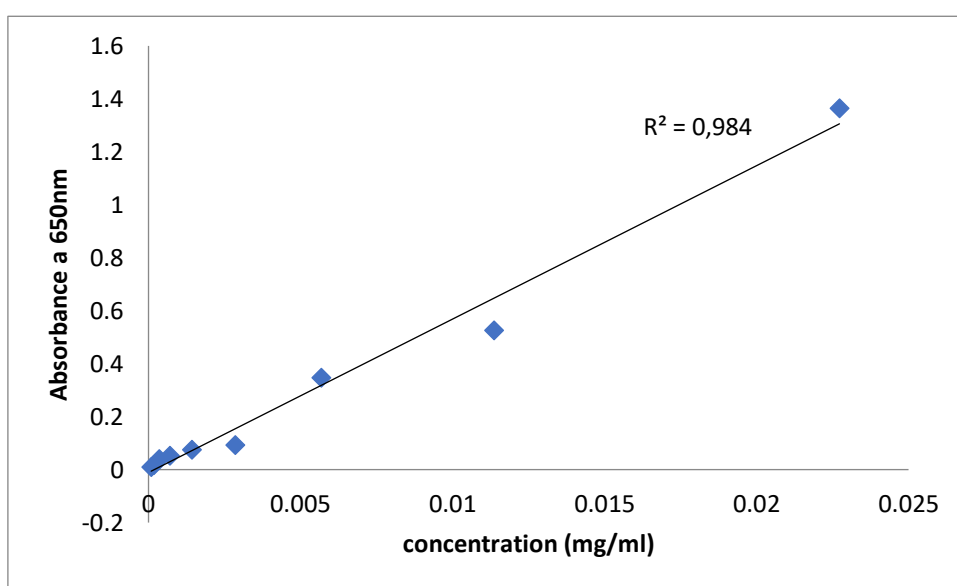


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

III.4.3.3 Test de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power):**a. Principe**

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de pro-oxydants.

Parmi ces métaux, le cation ferrique Fe^{3+} est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale.

Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydant.

L'activité antioxydant, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo- réduction.

La méthode de FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique. La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode adaptée par (Hinneburg, 1998).

Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)- TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu-vert, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron.

La variation de la coloration est mesurée 700 nm (Bassene, 2012)

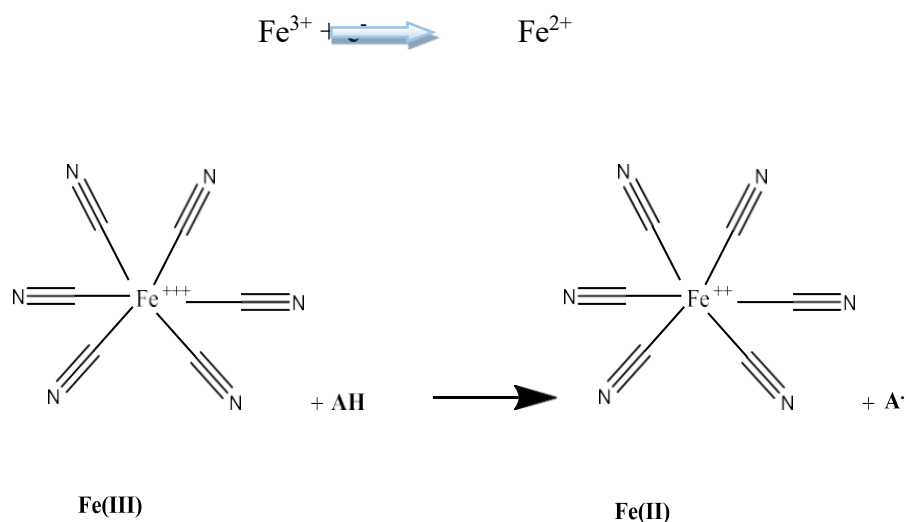


Figure 14 : Réaction d'un antioxydant avec le FRAP

a. Mode opératoire:

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode de FRAP. Ainsi, 0,1ml d'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2,5ml de tampon phosphate (0,2 M ; PH=6,6) et 2,5ml d'hexacyanoferrate de potassium $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ à 1%. Après une incubation du mélange à 50 °C pendant 20 minutes, 2,5ml d'acide trichloracétique 10 % y était ajouté, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. En suite 2,5ml du surnageant de chaque tube est mélangé avec 2,5 ml eau distillé et 0,5 ml d'une solution de FeCl_3 à 0,1% et mesurer les absorbances à 700 nm, une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C ; les résultats sont exprimés comme (mmole de vitamine C) par g et la capacité réductrice exprimés en tant qu'équivalent de la vitamine C.

III.4.3.4 Test l'ABTS;**a. Principe**

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à 734 nm. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais, souvent, aussi du temps et de la concentration

a. Mode opératoire :

La solution ABTS^{•+} était préparée en mélangeant 7 mM de sel ABTS avec 2.45 mM de persulfate de potassium dans 25 mL d'eau distillée, à la température ambiante dans l'obscurité et conservée pendant 16 h avant l'utilisation. La solution ABTS^{•+} a été diluée avec de l'éthanol à 95% (environ 600 µL ABTS^{•+} à 40 mL d'éthanol à 95%), afin d'obtenir une absorbance de 0,7 à 0,8 à 734 nm. 100 µl d'extrait est ajouté à 1.9 mL de la solution radicalaire d'ABTS^{•+}. Le mélange est incubé à 37°C à l'abri de la lumière pendant 15 min. Un contrôle constitué de 100 µL de MeOH et de 1.9 mL de la solution d'ABTS^{•+} est lu avec chaque série d'extrait à 734 nm. L'éthanol à 95% utilisé comme un blanc. Tous les tests sont reproduits au moins trois fois (Dorman et Hiltunen, 2004).

CHAPITRE IV :

Résultats & Discussions

IV.1-Résultats et Discussions

IV.1.1.-Dosage des Polyphénols Totaux :

La méthode de quantification appliquée est considérée comme la meilleure pour le dosage des polyphénols totaux des extraits de plantes, car elle est simple, reproductible et les interférences avec la matrice de l'échantillon qui est souvent colorée sont minimisées à la grande longueur d'onde d'absorption (765 nm) utilisée (**Huang et al.,2005**).

Les résultats sont présentés dans le tableau 5 et sont exprimés en milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

Tableau 5 : Teneurs en phénols totaux

L'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i>	Teneurs en phénols totaux (mg EAG/g E)
Extrait éthanolique	245,855± 10,020

Selon le tableau 5, l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* est plus riche en polyphénols avec des concentrations de 245,855± 10,020 mg/g d'extrait.

Les résultats obtenus sont inférieure de ceux trouvés par **Benhammou et al. (2009)** en étudiant l'extrait aqueux des feuilles et des rameaux de *Thymelaea microphylla* collectée du Sahara Algérien où les valeurs de contenu en polyphénols sont comprises entre 18.6 et 36.1mg/g. ça peut être expliqué par la relation qui existe entre la quantité de polyphénols contenus dans la plante et la variation des conditions climatiques, la nature du sol et aussi la partie étudiée de la plante (**Boizot et Charpentier, 2006**).

IV.1.2-Dosage des Flavonoïdes Totaux :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (Change et al.,2002). Les teneurs en flavonoïdes totaux de la plante étudiée et pour chacun des solvants ont été estimés grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec une substance de référence la rutine à différentes concentrations. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent rutine par gramme d'extrait (mg ER /g).

Tableau 6: Teneurs en flavonoïdes

L'extrait de <i>thymelaea hirsuta</i>	Teneurs en flavonoïdes (mgER/g E)
Extrait éthanolique	183,066± 7,732

L'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* est plus riche avec une valeur de 183,066± 7,732 mg ER/g d'extrait en utilisant la rutine comme standard

Selon **Dehimi. (2011)**, la fraction est plus grande teneur en flavonoïdes (FR2,2R=1433,23 ; P=0) est celle d'acétate d'éthyle (639,722±11,99 mg ER/g. Lyo.), suivie largement par celle chloroformique (482,445±8,33mg ER/g. Lyo.), contrairement à la fraction n-butanolique ayant enregistrée une valeur minimale ; 307,778±11,74mg ER/g. Lyo.

D'un manière générale, il ressort de ces résultats comparatives que ces différences dans la teneur composés phénoliques totaux et des flavonoïdes ,aussi bien chez *Thymelaea hirsuta* (mélange) ou dans d'autre plantes peuvent être expliquées par les conditions environnementales (climatiques et période de collecte), le choix d'espèce végétale dans l'extraction, ainsi que par les conditions expérimentales portant sur la méthode de séchage ,le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction et sa polarité.

IV.2-Evaluation de l'Activité Antioxydant :

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de la plante de *Thymelaea hirsuta* a été réalisée par quatre techniques (le piégeage du radical libre DPPH et le test du piégeage des radicaux ABTS⁺ test de FRAP et Test du Phosphomolydate).

IV.2.1-Test de DPPH :

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits.

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ qui est définit comme étant la concentration de l'extrait exprimée nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH et calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I % en fonction de la concentration de chaque extrait, De même, nous avons calculé les IC₅₀ de la vitamine C, BHA et BHT

choisis comme des antioxydants standards dans ce test. Il faut rappeler que plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante des extraits est grande.

Tableau 7 : valeurs des IC₅₀ trouvées pour l'extrait de *thymelaea hirsuta* de test de DPPH

Les extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait éthanolique de <i>thymelaea hirsuta</i>	0,0002±1,2464E ⁻⁰⁵
Acide ascorbique	0.0011±0.005
BHT	0.0012±0.002
BHA	0.0078±0.0004

D'après le tableau 7 , les résultats révèlent que l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* est plus actif avec une IC₅₀ de 0,0002±1,2464E⁻⁰⁵ mg/ml

En comparaison avec les standards l'acide ascorbique, BHT et BHA dont les IC₅₀ sont de 0.0011±0.005, 0.0012±0.002 et 0.0078±0.0004 mg/ml, respectivement, l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* montre une activité antioxydante plus importante que celle du standard.

Selon les résultats de Dehimi. (2011), du test DPPH, les deux extraits aqueux et alcoolique de *thymelaea hirsuta* ont montré un effet scavenger avec des IC₅₀ de 0.1 et 0.2 mg/ml, respectivement, ce résultat est très faible par rapport notre résultats.

IV.2.2-Test du Phosphomolydate :

La capacité antioxydante s'exprime par la réduction de l'ion Mo (VI) en Mo (V), La complexation de ce dernier avec le phosphate abouti à une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'extrait Prasad et al. (2009). L'activité antioxydante est mesurée selon un nouveau terme appelé VCEAC (vitamine C Equivalent Antioxidant Capacité). On définit le VCEAC comme la concentration molaire de la solution de vitamine C qui possède un pouvoir réducteur équivalent à solution de concentration 1 M de composé étudié. L'évolution de l'activité antioxydante de l'extrait est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C)

Le paramètre VCEAC, plus la valeur de VCEAC est importante, plus le pouvoir antioxydant de l'extrait est important. Les différentes valeurs de VCEAC calculés pour chaque extrait sont regroupées dans le Tableau (8)

Tableau 8 : valeurs VCEAC de l'extrait de *thymelaea hirsuta* d'étudié par le test du Phosphomolybdate

Extrait	VCEAC(M)
Extrait éthanolique de <i>thymelaea hirsuta</i>	0,121±0,004

L'extrait *thymelaea hirsuta* a montré une capacité antioxydant totale moyennement élevée avec de valeur de VCEAC = 0,121±0,004 M

L'extrait *thymelaea hirsuta* possède une capacité globale à réduire le molybdène.

IV.2.3-Test Pouvoir Réducteur : FRAP (Ferric Reducing AntioxydantPower) :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir donneur d'électron. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Bentabet et al., 2014).

Tableau 9 : Valeur VCEAC de l'extrait de *thymelaea hirsuta* pour le test de FRAP

Extrait	VCEAC(M)
Extrait éthanolique de <i>thymelaea hirsuta</i>	0,610±0,047

Nous remarquons que l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* présente une activité élevée pour réduire le fer avec une valeur de VCEAC de 0,610±0,047 M.

Les résultats ont été rapporté par Ouda Amari .(2014) l'extrait aqueux de fleurs de *thymelaea hirsuta* a montré une capacité de réduction du fer de $0,810 \pm 0,01$ à une concentration de 8 $\mu\text{g/ml}$

IV.2.4- Test de l'ABTS :

La capacité du produit à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber, aussi bien les phases d'initiation que de propagation, implique la création de radicaux. Dans le test l'ABTS, l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

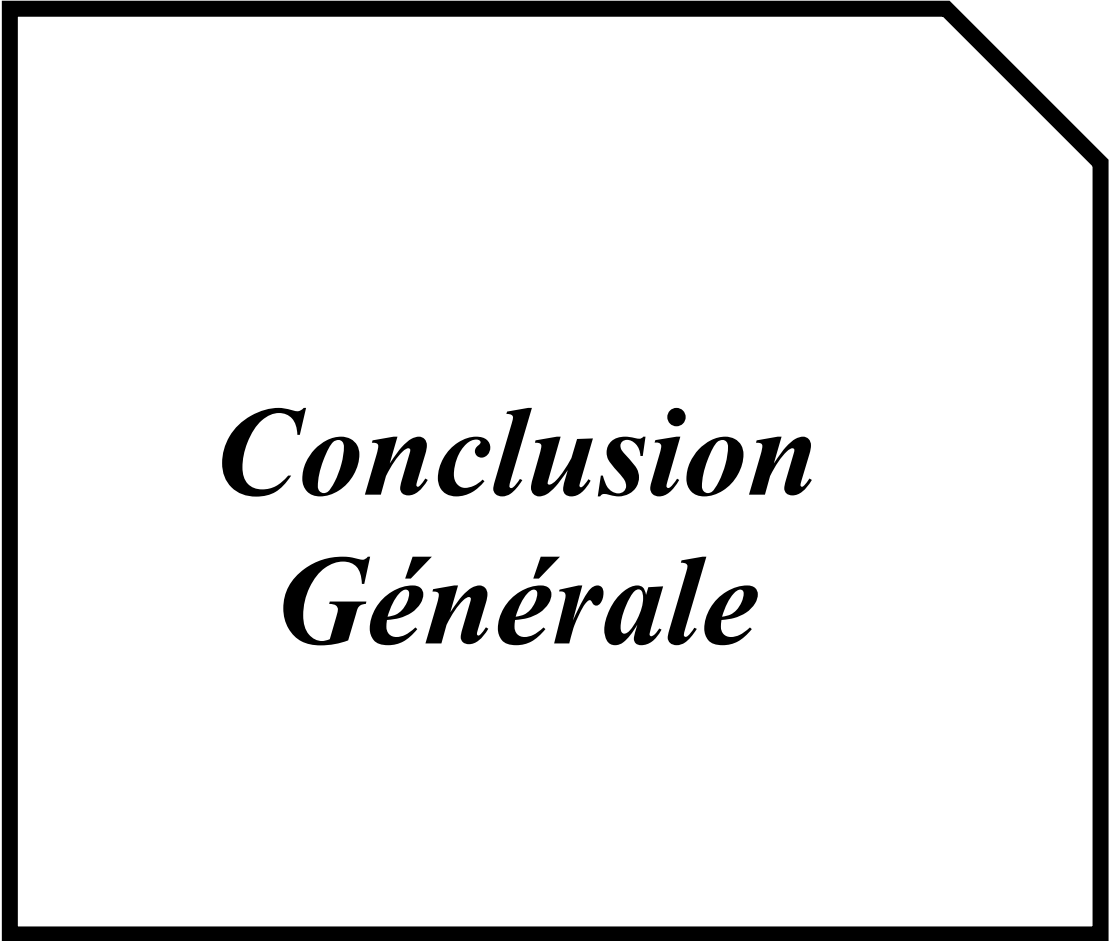
Tableau 10 : valeurs des IC₅₀ trouvées de l'extrait de *thymelaea hirsuta* et TROLOX étudié pour l'ABTS

Les extraits	IC ₅₀ (mg /ml)
Extrait éthanolique de <i>thymelaea hirsuta</i>	0,033±0,002
TROLOX	0,004 ± 0.0002

Nos résultats révèlent que l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* est plus actif avec une IC₅₀ de 0,033±0,002 mg/ml

A des fins comparatives, l'antioxydant standard est utilisé le Trolox , il a montré une activité antiradicalaire puissante avec d'IC₅₀ de l'ordre de 0,004 ± 0.0002 mg/ml. L'extrait d'éthanolique *thymelaea hirsuta* possède une activité antioxydante élevée à réduire le radical ABTS, mais reste relativement faible par rapport à celui de Trolox

Une étude de **Yahyaoui, (2018)** en Tunisie a montré que l'extrait méthanolique de *Thymelaea hirsuta* obtenait des valeurs d'IC₅₀ variant entre 6,4 et 22,23 mg/L, indiquant une activité antioxydante modérée à élever selon la localisation géographique de la plante



***Conclusion
Générale***

Conclusion Générale

L'objectif du présent travail est l'extraction des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta*. Dans la première partie, la quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, en parallèle, l'analyse quantitative du contenu en flavonoïdes réalisée par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium.

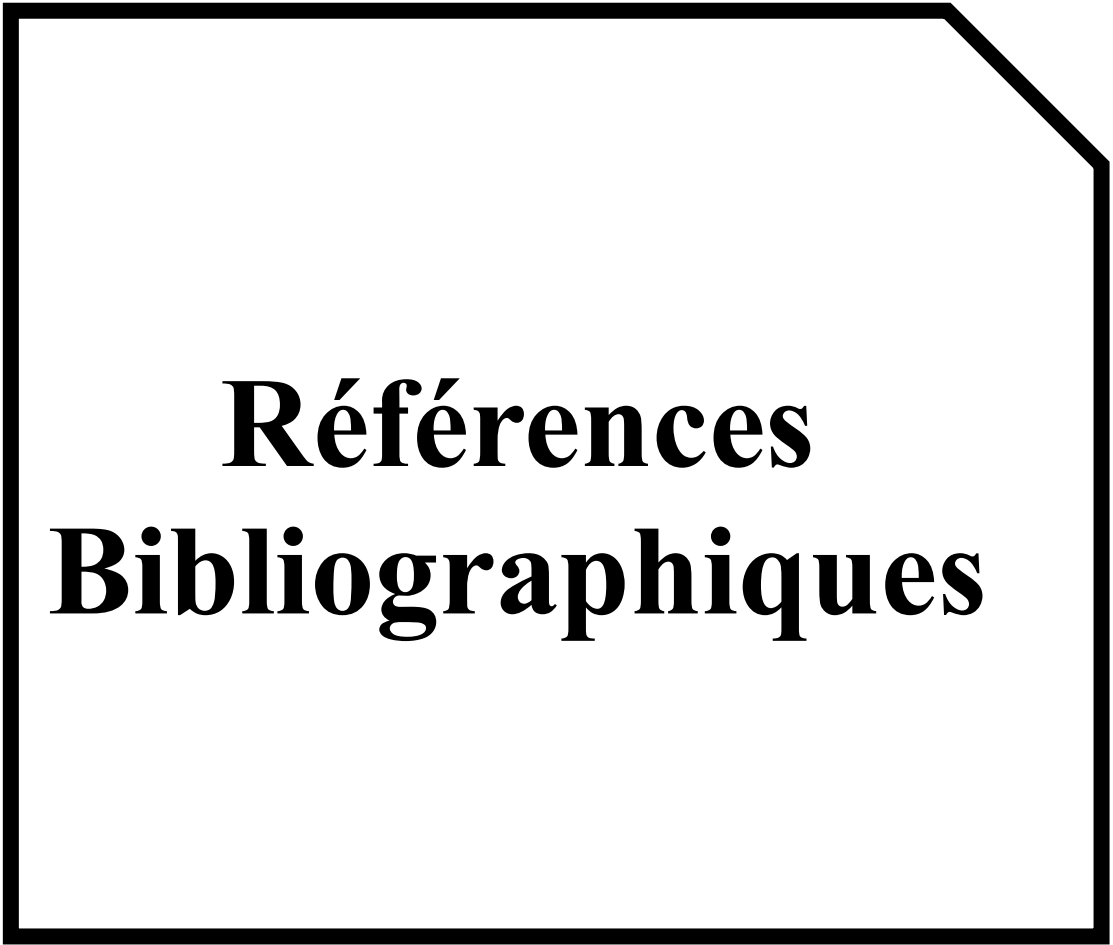
Les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* en phénols totaux, elle est de l'ordre de $245,855 \pm 10,020$ mg EAG/g E, en flavonoïdes de l'ordre de $183,066 \pm 7,732$ mg ER/g E.

L'activité antioxydante de l'extrait de *thymelaea hirsuta* a été évaluée par quatre méthodes : le test de piégeage de radical libre DPPH, le test de l'ABTS, le test de phosphomolybdate, le test FRAP (Ferric reducing antioxidant power).

Les résultats du DPPH montrent que l'extrait *thymelaea hirsuta* étudié possède une meilleure capacité à piéger le radical DPPH[•], avec une IC₅₀ égale à $0,0002 \pm 1,2464 \times 10^{-5}$ mg/ml, mais cette capacité relativement forte par rapport à celui de l'acide ascorbique, BHA et le BHT qui sont utilisés comme standard. Et pour la méthode de l'ABTS l'extrait de *thymelaea hirsuta* reste à une capacité antioxydante plus élevée avec un IC₅₀ de $0,033 \pm 0,002$ mg/ml. Et pour la méthode de phosphomolybdate, l'extrait de *thymelaea hirsuta* possède une action réductrice vis-à-vis Mo (VI), avec VCEAC de $0,121 \pm 0,004$ M.

Ainsi, une activité antioxydante remarquable a été constatée par le test du FRAP comme nous avons remarqué que l'extrait de *thymelaea hirsuta* présente une capacité intéressante pour réduire le fer avec VCEAC de $0,610 \pm 0,047$ M.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que l'extrait phénolique de la plante *thymelaea hirsuta* étudiée a une bonne activité antioxydante intéressante. Cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique comme elle peut trouver aussi une application dans l'industrie alimentaire.



**Références
Bibliographiques**

A

Akrout, A., Gonzalez, L.A., El Jani, H., Madrid, P.C. 2011. Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern of Tunisia. *Food Chemistry and Toxicology*.

Azza, Z, Marnissi F, Naya A, Benjelloun N, Zamiyati S, Amrani M, et al. 2012. Toxicological evaluation of *Thymelaea hirsuta* and protective effect against CCl₄-induced hepatic injury in rats. *Int J Biol Chem Sci*.

B

Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Coustard, J.M., 2009. Antioxidant activity of methanolic and water extracts from *Marrubium deserti* (de Noë) and *Thymelaea microphylla* from Algerian Sahara. *Advances in food sciences*.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie.

Boizot, N., Charpentier, J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*.

Borris, R.P., Blaskó, G., Cordell, G.A. 1988. Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the *Thymelaeaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*.

Boussaid Samiya, 2011. Etude phytochimique et activité biologique des parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de *Thymelaea hirsuta*. Spécialité: Valorisation de substance naturelle végétale. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

Bratt, K., 2000. Secondary plant metabolites as defense against herbivores and oxydative stress. Synthesis, isolation and biological evaluation. *Acta Univ*.

C

Cronquist, A. (1968). *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. Houghton Mifflin Co., Boston.

COMHAIR S.A. et ERZURUM S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol lung cell mol physiol*.

D

Dohou, N., Khalid, Y., Najib, G., Idrissi, H.; (2004). Etude de polyphenols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, thymelaealythroïdes. Acta botanica malacitana.

E

Engler, A., Gilg, E. 1924. Syllabus der Pflanzenfamilien. Auflage, Gebrueder Borntraeger. Berlin.

Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy Angiosperms. Chronica Botanica Co. Waltham, MA.

El Kalamouni C. 2010. Caractérisation chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.

F

FARNSWORTH N.R., AKERELE O., BINGEL A.S., SOEJARTO D.D., GUO Z., 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.

Fournier, P. ; (1999). Les plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome III, éd. Connaissance et mémoires Européennes.

Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

G

Gundersen, A. 1950. Families of Dicotyledons. Chronica Botanica Co., Waltham, MA.

Gharbo, S.A., Khafagy, S.M., Sarg, T.M.; (1970). Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*, U, Arab Rep, Journal Pharm.

H

Huang et al., 2005. *Thymelaea hirsuta* (L.) end. Thymelaeaceae. A guide to medicinal plant in northafrica. publié par ilucn international malaga, spain.

Hutchinson, J. 1967. The Genera of Flowering Plants. Oxford University Press, London.

Heining, K.H. 1951. Studies on the floral morphology of the Thymelaeaceae. Am. J. Bot.

K

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.

L

Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.

LUGASI A., HOVARI J., SAGI K., BIRO L., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prévention of diseases. Journal of actualité biological.

M

Melchior, H. 1964. Reihe Myrtiflorae. In: Melchior, H. (ed.), Syllabus der Pflanzenfamilien. 12. Auflage. Gebrueder Borntraeger. Berlin.

Madhavi D., Deshpande S., Salunkhe D. 1996. Food Antioxidants. Technological, Toxicological and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes.

Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif.

Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abd rabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H.; (2009). Hirseins A and B, daphnane diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* that inhibit melanogenesis in B16 melanoma cells, Journal of natural products.

Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abdrabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H.; (2009). Hirseins A and B, daphnane diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* that inhibit melanogenesis in B16 melanoma cells, Journal of natural products.

R

Rolland Y.2004. Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps Gras, Lipides.

Rizk, A.M., Rimpler, H.; (1972). Isolation of daphnoretin and β -sitosterol- β -D glucoside from *Thymelaea hirsuta*, *Phytochemistry*.

Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I.; (1974). Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*, II, Lipid fraction. *Plant Med*, vol (26), pp346-358
rigui, M., Hsouna, A., Tounsi, S.: (2013). *J. Industrial Crops and Products*.

S

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids *Review. J. Sep. Sci.*

Spichiger., Rodolphe., Clément, C., Bastian, B.; (2004). "Geographical zonation in the Neotropics of tree species characteristic of the Paraguay-Paraná Basin." *Journal of Biogeography*.

W

Wagenitz, G. 1964. Reihe *Thymelaeales*. In: Melchior, H. (ed.), *Syllabus der Pflanzenfamilien*. Auflage, Gebrueder Borntraeger, Berlin.

Y

Yahyaoui Maroua , Jalloul Bouajila , Sylvie Cazaux , Manef Abderrabba . The impact of regional locality on chemical composition, anti-oxidant and biological activities of *Thymelaea hirsuta* L. extracts **j. phymed.2018.01.010.**

Yusuf, Y. (2006). *Trends Food Sci. Tech.*

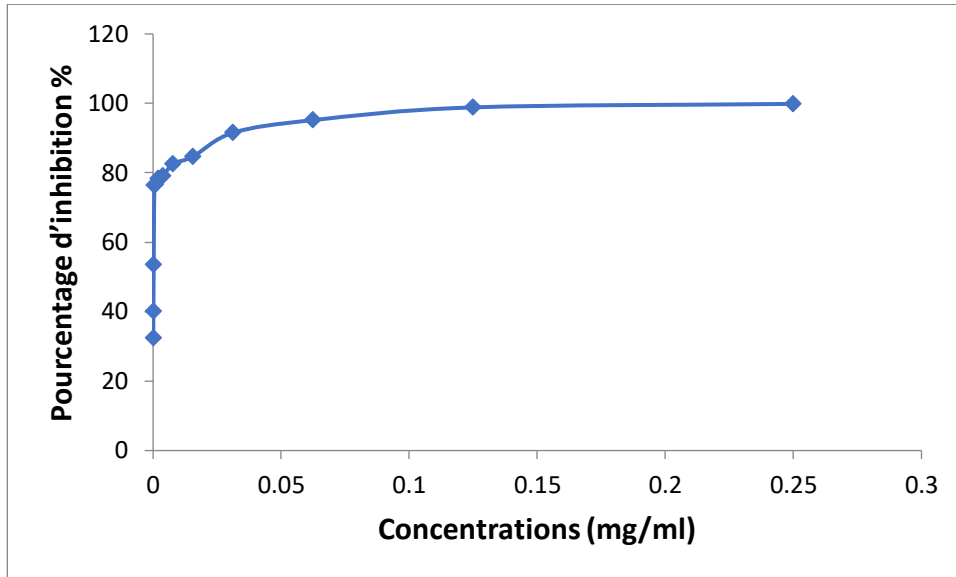
Ouda Amari Nesrine, Mohamed Bouzouina , Abdellah Berkani , Brahim Lotmani . Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L.



Annexes

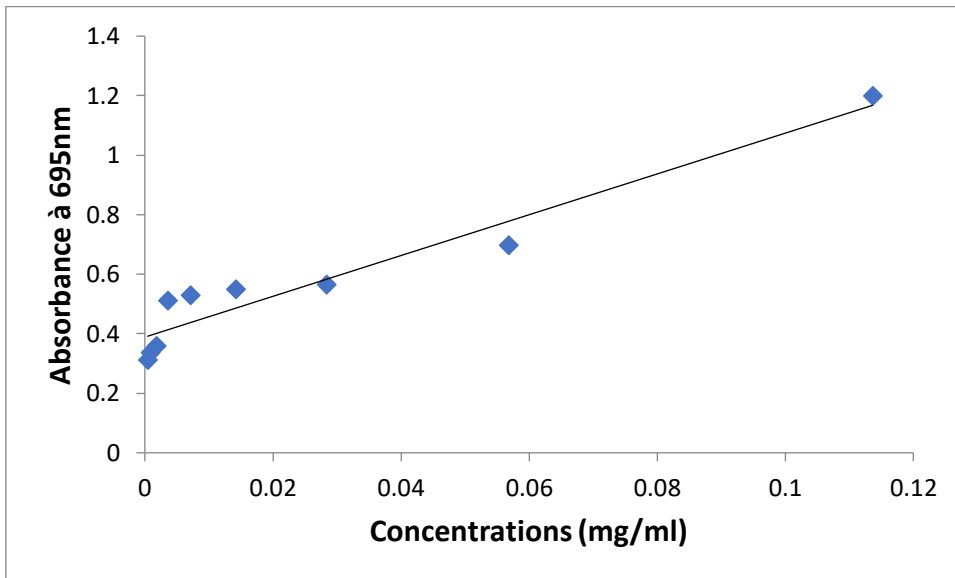
Annexe 1 : Test de DPPH

Extrait éthanolique thymelaea hirsuta



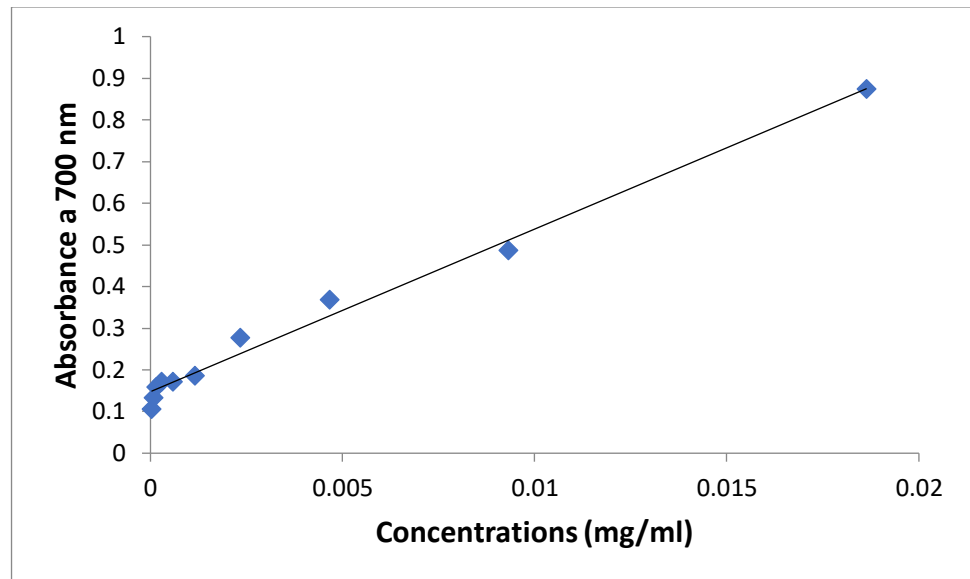
Annexe 2 : Test de Phosphomolybdate

Extrait éthanolique thymelaea hirsuta



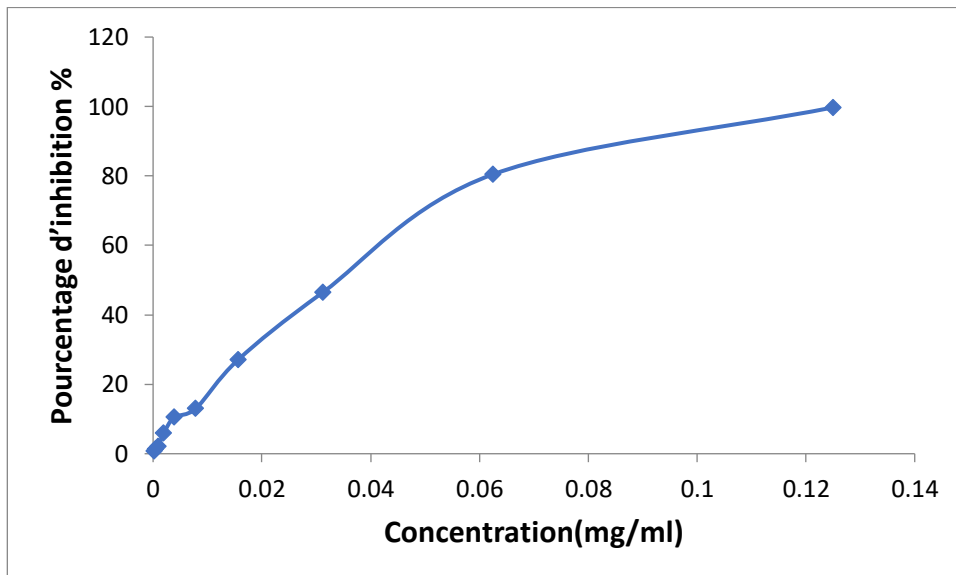
Annexe3: Test de FRAP (Ferric Reducing antioxydant Power)

Extrait éthanolique thymelaea hirsuta



Annexe 4 : Test de ABTS

✓ Extrait éthanolique thymelaea hirsuta



ملخص

عنوان المذكرة: الأنشطة المضادة للأكسدة من مقتطفات الفينولية من ثيميليا هيرسوتا
الإسم: نجوة
اللقب: بن شهرة
المؤطر: قنان هجير

ملخص: كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لنبتة ثيميليا هيرسوتا. يتكون الجزء الأول من الدراسة من استخراج مادة البوليفينول والفلافونويد بالإيثانول. نحن كمياً مجموع البوليفينول والفلافونويد الذي لوحظ أن كمية البوليفينول في استخراج الإيثانول من ثيميليا هيرسوتا هو 10.020 ± 245.855 mg ملغ إيغ /غي وكذلك محتوى الفلافونويد مع محتوى 7.732 ± 183.066 mg ملغ إيغ/غي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من مقتطفات مختلفة من قبل أربع طرق؛ اختبار فوسفوموليبيدات، دبه، أبتس واختبار فراب، قدم استخراج إيثانوليك ثيميليا هيرسوتا نشاط مضادات الأكسدة مثيرة للاهتمام (إي $IC_{50} = 1.2464 \times 10^{-5}$ ملغ/مل) ل دبه وفوسفوموليبيدات اختبار (فسيك $IC_{50} = 0.121 \pm 0.004$ م)، اختبار فراب (فسيك $IC_{50} = 0.610 \pm 0.047$ م) واختبار أبتس (إي $IC_{50} = 0.033 \pm 0.002$ ملغ/مل)

الكلمات المفتاحية: الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، دبه، فوسفوموليبيدات فراب، أبتس

Memory title: Antioxidant activities of phenolic extracts of *Thymelaea Hirsuta*

Name: benchohra

First name: nadjoua

Directed by:

GUENANE Hadjira

Abstract: The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of the *thymelaea hirsuta* plant. The first part of the study consists in extracting the polyphenols and the flavonoids with ethanol. We quantified the total polyphenols and flavonoids from which it was noted that the number of polyphenols in the ethanol extract of *thymelaea hirsuta* is 245.855 ± 10.020 mg EAG /gE as well as the flavonoid content with a content of 183.066 ± 7.732 mg ER/gE.

The antioxidant activity of various extracts was evaluated by four methods; the phosphomolybdate test, DPPH, ABTS and the FRAP test, the ethanolic extract *thymelaea hirsuta* presented an interesting antioxidant activity ($IC_{50} = 1.2464 \times 10^{-5}$ mg/ml) for the DPPH and phosphomolybdate test ($VCEAC = 0.121 \pm 0.004$ M), FRAP test ($VCEAC = 0.610 \pm 0.047$ M) and ABTS test ($IC_{50} = 0.033 \pm 0.002$ mg/ml)

Key words: flavonoids, antioxidant activity, DPPH, phosphomolybdate FRAP, ABTS

Titre du mémoire : Activités antioxydantes des extraits phénoliques de *Thymelaea Hirsuta*

Nom : benchohra

Prénom : nadjoua

Encadreur : GUENANE Hadjira

Résumé : Le but de cette étude était d'évaluer l'activité antioxydante de la plante *thymelaea hirsuta*. La première partie de l'étude consiste à extraire les polyphénols et les flavonoïdes avec l'éthanol. Nous avons quantifié les polyphénols totaux et les flavonoïdes d'où on a marqué que la quantité en polyphénols de l'extrait éthanolique de *thymelaea hirsuta* est de $245,855 \pm 10,020$ mg EAG /gE ainsi que le taux de flavonoïdes avec une teneur de $183,066 \pm 7,732$ mg ER/gE.

L'activité antioxydante de divers extraits a été évaluée de quatre méthodes ; le test de phosphomolybdate, DPPH, ABTS et le test de FRAP, l'extrait éthanolique *thymelaea hirsuta* présenté une activité antioxydante intéressante ($IC_{50} = 1,2464 \times 10^{-5}$ mg/ml) pour le test DPPH et phosphomolybdate ($VCEAC = 0,121 \pm 0,004$ M), test de FRAP ($VCEAC = 0,610 \pm 0,047$ M) et test de l' ABTS ($IC_{50} = 0,033 \pm 0,002$ mg/ml)

Mots clés : flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, phosphomolybdate FRAP, L'ABTS