

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة

Département Des Sciences de la matière

Mémoire de MASTER

Domaine: Sciences de la matière

Filière: Chimie

Option: Chimie organique appliquée

Par :

GAIRAA Brahim

THEME

**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux
plantes médicinales (*Pituranthos chloranthus*, *Anvillea
radiatae*) récoltées dans la région de Ghardaïa**

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

<i>Mr. GHERIB Abdelaziz</i>	<i>M.C.A</i>	<i>President</i>
<i>Melle. BATANA Fatima Zahra</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mr. KORIBA Bakhti</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Mr. BOUCHOUKA El-Mouloud</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Rapporteur</i>

Année Universitaire 2013/2014

The image features a decorative border with pink lilies and a gold frame. The lilies are arranged in a corner pattern, with some flowers having yellow centers and others being solid pink. The gold frame is ornate and follows the shape of the text area. The background is a light pink color with a subtle texture.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail
À mes très chers parents,
À mes chers sœur et frères,
À toute ma famille,
À tous mes amis*

Remerciements

Je remercie DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

*Je tiens à remercier Monsieur **A. GUIBADJ** Chef du département de science de la matière de l'Université **AMAR TELIDJI** de m'avoir accueilli et d'avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire*

*Je tiens à présenter mes remerciements à mes promoteurs Monsieur **KORIBA Bakhti** et Monsieur **BOUCHOUKA El-Mouloud** qui m'ont guidés le long de tout ce travail, pour le suivi continuél le long de tout la réalisation de ce mémoire et pour leurs précieux conseils.*

*J'adresse mes sincères remerciements à M^r **GHERIB Abdelaziz**, Maître de conférences à l'Université de Laghouat d'avoir accepté de présider le jury.*

*J'exprime mes vifs remerciements à M^{elle} **BATANA Fatima Zahra**, Maître assistante à l'Université de Laghouat pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Je tiens à remercier vivement toute personne qui m'a aidé à élaborer et réaliser ce mémoire, ainsi tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à accomplir ce travail.

Je remercie aussi tous les ingénieurs de laboratoire qui aide nous a tous temps de la réalisation de ce mémoire.

J'aimerais en fin, je tenon à exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues pour leurs soutien moral et matériel.

Liste des Notations

Abs	Absorbance
AcOEt	Acétate d'éthyle
BuOH	n-Butanol
[]	Concentration
DCM	dichlorométhane
DPPH	Le radical stable [2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl]
EAG	Équivalent acide gallique
Ebr	Extrait hydrométhanolique (Extrait brut)
EC ₅₀	La concentration en extrait phénolique nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres
HX	Hexane
mM	Milimolaire
PI %	Pourcentage d'inhibition
UV	Rayons ultraviolet
λ	Longueur d'onde (cm)

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	<i>Pituranthos chloranthus</i> (www.sahara-nature.com)	03
Figure 2:	<i>Anvillea radiatae</i> (www.sahara-nature.com)	04
Figure 3:	Schémas illustrant l'extraction hydrométhanolique	06
Figure 4:	Schémas illustrant le fractionnement de l'Ebr	07
Figure 5:	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	10
Figure 6:	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH [•] entre l'espèce radicalaire DPPH [•] et un antioxydant (AH)	11
Figure 7:	Rendements des extraits de <i>P.chloranthus</i> et <i>A.radiatae</i>	13
Figure 8:	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de la VC	16
Figure 9:	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de Trolox	16
Figure 10:	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de <i>P. Chloranthus</i>	18
Figure 11:	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration D' <i>A. radiatae</i>	19
Figure 12:	La variation de la teneur en EC ₅₀ en fonction de la teneur en phénols totaux	20

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Rendements d'extractions et concentrations des extraits.	12
Tableau 2 :	Teneur en phénols totaux et valeurs d'EC ₅₀	14

Sommaire

Liste des notations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I. INTRODUCTION	01
II. MATÉRIEL ET MÉTHODE	03
II.1. Matériel végétal	03
II.2. Préparation des extraits	05
II.2.1. Préparation des extraits hydrométhanoliques (Ebr)	05
II.2.2. Fractionnement des extraits hydrométhanoliques	05
II.3. Calcul de rendement	08
II.4. Dosage des phénols totaux	08
II.4.1. Principe	08
II.4.2. Protocole expérimental	09
II.5. Courbe d'étalonnage	09
II.6. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par le test au DPPH	10
II.6.1. Principe	10
II.6.2. Protocole expérimental	10
III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	12
III.1. Rendements d'extraction et concentrations des extraits	12
III.2. Détermination de la teneur en phénols totaux	13
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH	15
IV. CONCLUSION	21
Références	22

I. INTRODUCTION

Pour se soigner, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions), administrés par frictions, inhalations, cataplasmes, massage ou encore par voie orale. Le nombre d'espèces de plantes à fleurs connues est évalué à plus de 400 000. On estime à environ 34 000 le nombre d'espèces encore inconnues à ce jour.

Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme central. Ces métabolites secondaires exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes d'insectes, sécheresse, lumière UV etc.....). L'évaluation de la valeur thérapeutique de ces métabolites fait l'objet de nombreuses recherches et amène à l'identification des principaux éléments actifs de la plante, les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques. L'industrie pharmaceutique s'appuie largement sur la diversité et les propriétés biologiques des métabolites secondaires végétaux pour le développement de nouveaux médicaments (**j.SALEM, 2009**).

Elles constituent une source importante des produits naturels actifs qui diffèrent largement en termes de structure et propriétés biologiques. La prévention des maladies de cancer, neurodégénérative et cardiovasculaires a été liée à la consommation des fruits frais, des légumes ou des plantes riches en antioxydants. La toxicité potentielle des antioxydants synthétiques a réveillé un intérêt accru à la préparation des antioxydants des sources naturelles telles que des herbes, épices, graines, céréales, fruits et légumes par extraction, fractionnement et purification (**Peksel et col, 2010**).

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire **(Guinebert et col., 2005)**.

Les composants phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits.

Les principales classes des composants phénoliques sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines. Ils sont des molécules biologiquement actives largement utilisés en thérapie comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants anti-radicalaires et antimicrobiens **(S.Djemai et col, 2008)**.

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules Antioxydantes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. **(AbdNacer, 2012)**.

L'objectif de notre étude est de déterminer la teneur en composés phénoliques par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu et l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH des extraits bruts et de leur fractions de deux plantes médicinales : *Anvillea radiatae* et *Pituranthos chloranthus*.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel végétal

Les plantes ont été récoltées au mois de Mars 2014, dans la région de Ghardaïa: "Metlili, Sebseb". L'identification du matériel végétal est faite par le Dr. CHEHMA A du département de Biologie à l'université de Ouargla. Les plantes sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant une semaine. Après le séchage, les plantes sont finement broyées puis stockées dans des boîtes en plastique opaque jusqu'à leur utilisation.

○ *Pituranthos chloranthus*.

Appellation: guezah.

Famille: Apiaceae.



Figure 1: *Pituranthos chloranthus* (www.sahara-nature.com)

Situation: Sahara septentrional et occidental ainsi qu'au Sahara central (Tassili des Ajjer et Hoggar). Espèce endémique nord-africaine.

Description: Elle a une taille de 60 cm à plus de 1 m de haut, plante vivace poussant en touffes importantes, ramifiées à la base. Feuilles divisées en 2 ou 3 lanières étroites à la

base de la plante. Fleurs à pétales verdâtres à nervure dorsale pubescente et large, fruits poilus. Les fleurs sont regroupées en ombelles à longs pédoncules, la tige florale comporte des ramifications.

Usage traditionnel: les fleurs et les feuilles sont utilisées en infusion ou en décoction pour soigner les indigestions, les maux d'estomac ainsi que les maux du bas du ventre et en cataplasme sur la tête dans le soin des céphalées.

○ *Anvillea radiatae*

Appellation: nougd

Famille: Asteraceae



Figure 2: *Anvillea radiatae* (www.sahara-nature.com)

Situation: Sud du Sahara septentrional, Sahara central dans les dépressions sablo argileuses. Espèce endémique saharienne.

Description: Arbuste très rameux, à tiges et rameaux ligneux à la base. Feuilles vert bleutée forme de triangle allongé et à bord denté. Les inflorescences disposées en larges capitules jaune orangé sont entourées de feuilles rayonnantes qui passent progressivement aux bractées coriaces et piquantes. La plante dégage un léger parfum agréable.

Usage traditionnel: l'infusion de la partie aérienne est utilisée contre les maux d'estomac, les maladies du foie et comme un remède pour le diabète.

II.2. Préparation des extraits

II.2.1. Préparation des extraits hydrométhanoliques (Ebr)

Cette étape consiste à extraire le maximum des substances actives contenues dans les plantes en utilisant le Méthanol comme solvant organique.

Une quantité de 5 g de la partie aérienne de chaque plante finement broyée est macérée trois fois dans 75 ml de Méthanol 70% pendant 24h sous agitation. Les macérations hydrométhanoliques ainsi obtenues sont filtrées sur papier filtre, puis évaporées à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C. Les résidus secs sont pesés puis repris dans l'Ethanol 80%.

II.2.2. Fractionnement des extraits hydrométhanoliques

Une quantité de 30 g de la partie aérienne de chaque plante finement broyée est macérée trois fois dans 450ml de Méthanol 70% pendant 24heures sous agitation. Les macérations hydrométhanoliques obtenues sont filtrées sur papier filtre, puis concentrées sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C.

Les solutions aqueuses (phases aqueuses) ainsi obtenues sont diluées avec de l'eau distillée et ont subi une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter avec une succession de solvants organiques par ordre de polarité croissante: Dichlorométhane (DCM), Acétate d'éthyle (AcOEt) et n-Butanol (BuOH). Les solutions aqueuses sont extraites trois ou quatre fois avec chaque solvant; chaque portion de solvant organique (phase organique) reste en contact avec la phase aqueuse sous agitation manuelle pendant quelques secondes, puis elles sont laissées reposer jusqu'à la séparation des deux

phases. Après décantation, les portions de chaque phase organique sont réunies et évaporées sous pression réduite à 45°C. Les extraits issus des fractions sont repris dans l'Ethanol 80%.

Le protocole d'extraction est résumé dans les deux schémas (**Figure 3, 4**) ci-dessous :

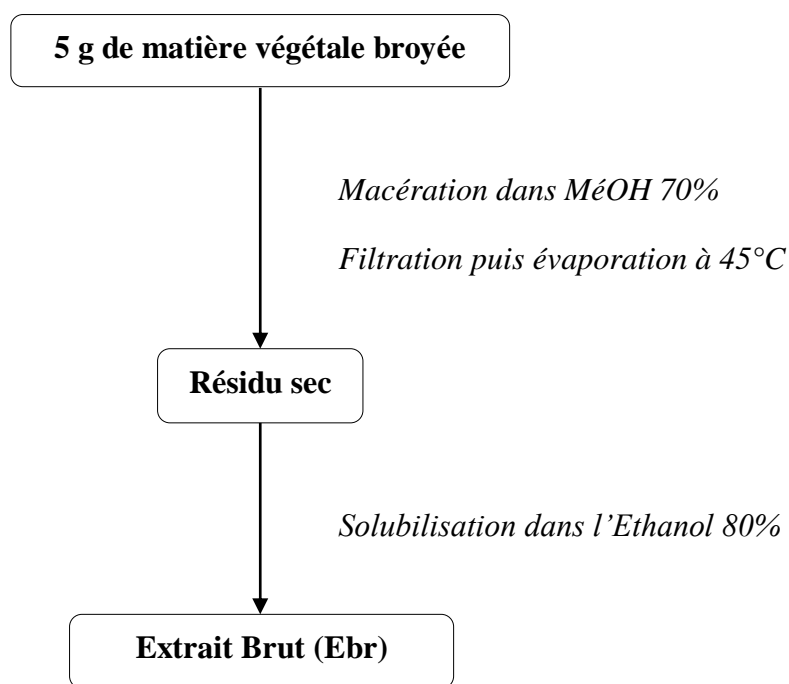


Figure 3: Schéma illustrant l'extraction hydrométhanolique

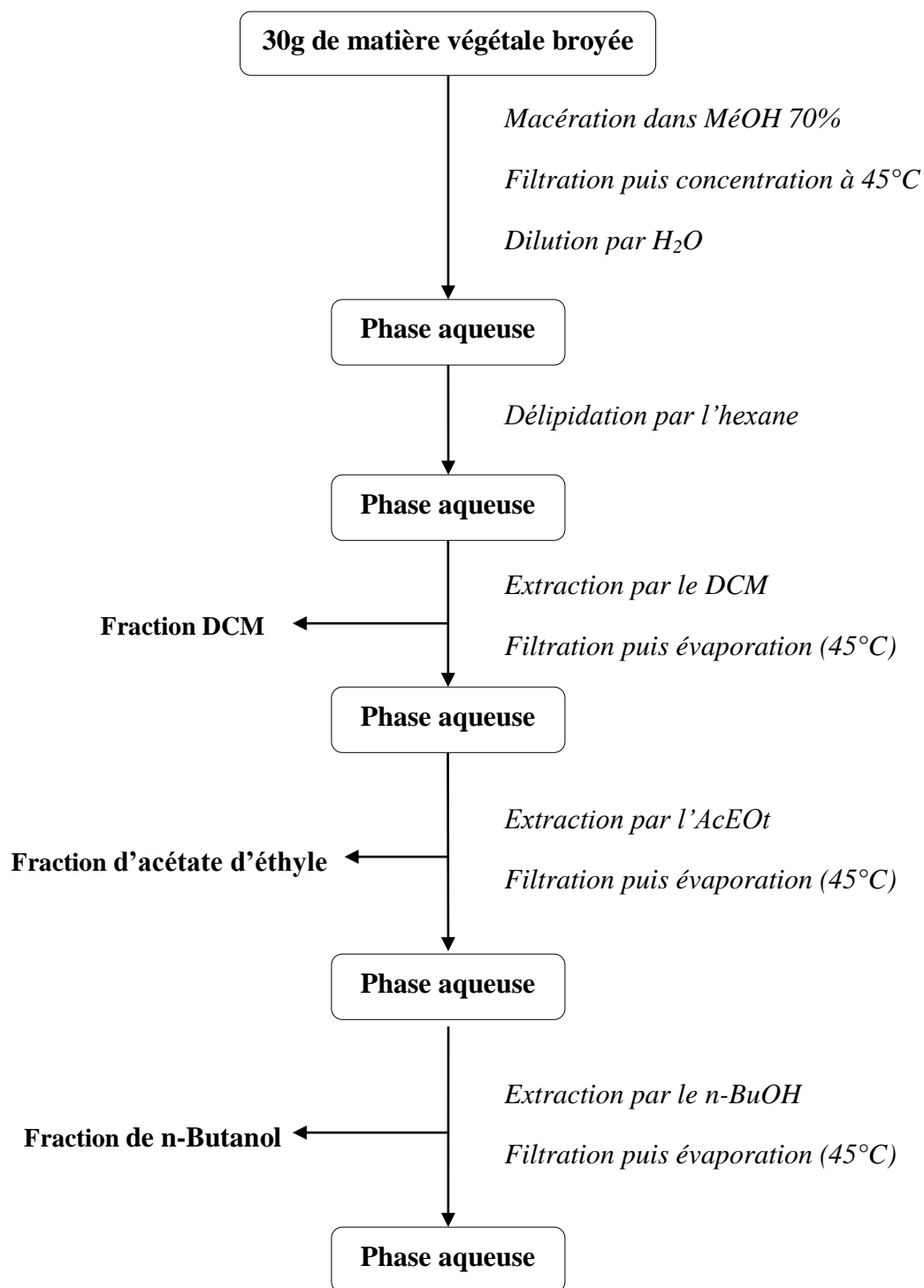


Figure 4: Schéma illustrant le fractionnement de l'Ebr

II.3. Calcul de rendement

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la biomasse de la plante traitée. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = (P_B / P_A) \times 100$$

P_B : poids d'extrait brut.

P_A : poids de la plante sèche en poudre.

II.4. Dosage des phénols totaux

II.4.1. Principe

Les phénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie, en utilisant la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides.

Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des phénols présents dans les extraits végétaux.

La quantification des phénols a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire $y = ax$, réalisée dans les mêmes conditions que l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (**figure 5**). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

II.4.2. Protocole expérimentale

La méthode adoptée pour le dosage des phénols totaux est celle décrite par Kim et ses collaborateurs (**Kim et al. 2003**) avec une légère modification.

Une quantité de 100 µl de l'extrait convenablement dilué dans l'EtOH 80% est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu (10 fois dilué) fraîchement préparé.

Après 5 minutes, une solution de Na₂CO₃ à 7 % (1 ml) est ajoutée tout en agitant. La solution est immédiatement diluée par 400 µl avec de l'eau distillée et le mélange est agité vigoureusement.

Après une incubation de 90 min dans l'obscurité et à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6300 visible Spectrophotomètre), contre un blanc (le même mélange excepté l'extrait qui est remplacé par 100 µl de EtOH 80%). La teneur en phénols est exprimée en mg EAG/g extrait. Tous les essais sont reproduits quatre fois.

II.5. Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère de l'acide gallique de 200 mg/l préparée dans l'EtOH 80%, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 20 à 200 mg/l. Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la figure ci-dessous :

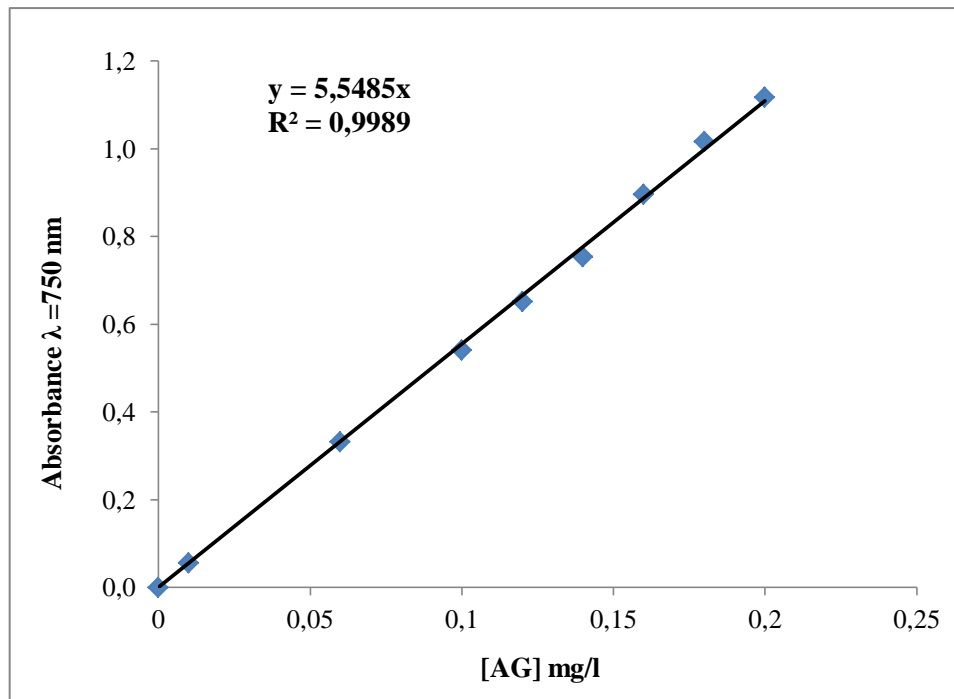


Figure 5: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

II.6. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par le test au DPPH

II.6.1. Principe

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite (Figure 6). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune (**Molyneux, 2004**) caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (**Brand-Williams, 1995**).

II.6.2. Protocole expérimentale

L'effet piègeur ou le pouvoir anti-radicalaire des différents extraits des plantes étudiées vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par Hansraj et ses collaborateurs (2006) en y apportant quelques modifications. Un volume de 2 ml de la solution de DPPH (0.2 mM) préparée dans l'éthanol 80% est mélangé avec 2 ml des

solutions d'extraits ou des antioxydants de référence (Vitamine C, Trolox) à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

La concentration efficace (EC_{50}) qui est la concentration d'extrait de plante ou de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence.

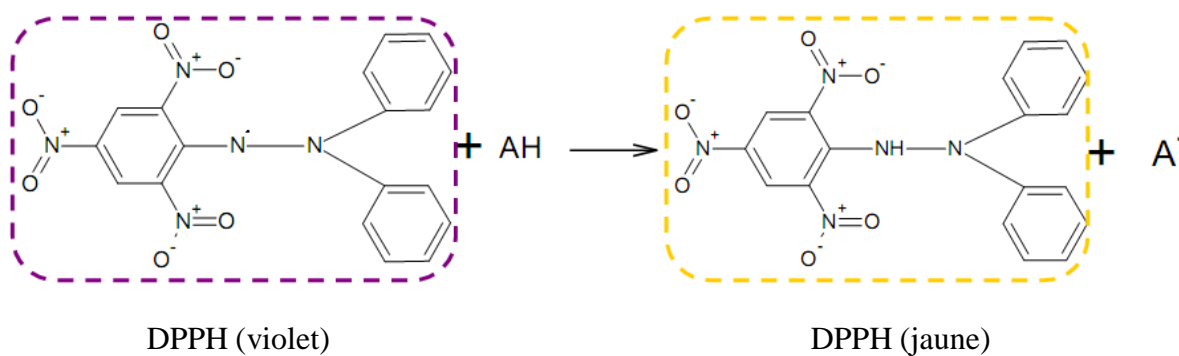


Figure 6: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH[•] entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant (AH).

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Rendements d'extraction et concentrations des extraits

Les plantes étudiées dans ce travail ont été macérées trois fois dans le Méthanol 70% pendant 24 heures pour obtenir deux extraits hydrométhanoliques bruts (Ebr). Par ailleurs, le fractionnement de l'extrait hydrométhanolique par une succession de solvants à polarité croissante nous a permis d'obtenir trois extraits pour chaque plante : l'extrait de Dichlorométhane (DCM), l'extrait d'Acétate d'éthyle (AcEOt) et l'extrait de n-Butanol (BuOH). Les rendements des extractions et les concentrations en résidu sec sont mentionnés dans le tableau ci-après.

Tableau1: Rendements d'extraction et concentrations des extraits.

Plante	Extrait	Rendement (%)	Concentration (g/l) (Résidu sec)
<i>P.chloranthus.</i>	Ebr	37,28	46,6
	DCM	2,13	4,33
	AcEOt	0,43	31,9
	BuOH	0,10	23,9
<i>A.radiatae</i>	Ebr	33,10	41,37
	DCM	1,03	10,3
	AcEOt	1,33	20
	BuOH	2,52	18,9

D'après ces résultats, Les extraits bruts de *P.chloranthus* et *A.radiatae* donnent les rendements les plus élevés (37,28% et 33,10% respectivement). Les extraits AcEOt et BuOH de *P.chloranthus* ont les plus faibles rendements.

La figure ci-dessous présente les rendements des différents extraits :

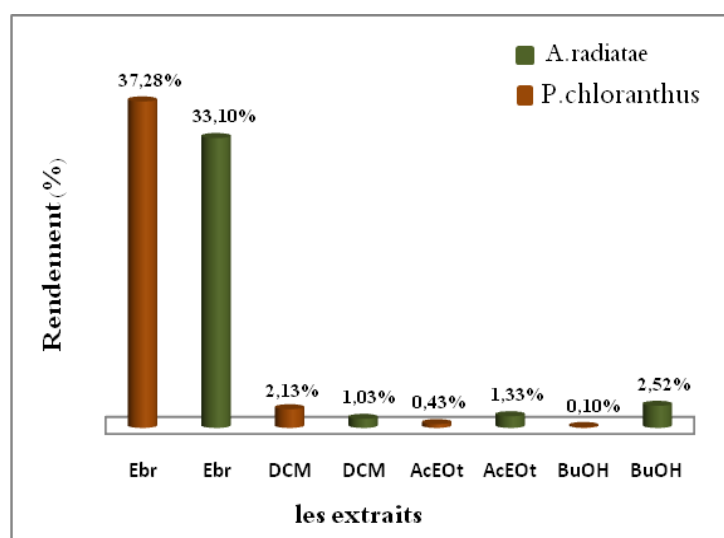


Figure 7: Rendements des extraits de *P. chloranthus* et *A. radiatae*

III.2. Détermination de la teneur en phénols totaux

Nous avons quantifié les composés phénoliques dans les différents extraits des deux plantes médicinales par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur en phénols totaux est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait de plante sèche et calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage (**figure3**).

Les teneurs en phénols totaux sont résumées dans le tableau ci-après :

Tableau 2: Teneur en phénols totaux et valeurs d'EC₅₀

Plante	Extrait	Teneur en phénols totaux		EC ₅₀ (mg/l)
		(mg/g) EAG		
<i>P.chloranthus.</i>	Ebr	1,360	± 0,010	109,447 ± 10,128
	DCM	255,163	± 1,470	88,832 ± 1,750
	AcEOt	375,430	± 7,591	38,809 ± 3,543
	BuOH	386,348	± 8,341	33,8213 ± 0,618
<i>A.radiatae</i>	Ebr	1,0120	± 0,025	22,306 ± 0,477
	DCM	37,154	± 0,404	531,953 ± 13,66
	AcEOt	374,576	± 9,249	38,709 ± 3,890
	BuOH	91,894	± 0,291	138,250 ± 2,977
	VC	/		9,380 ± 0,260
	Trolox	/		11,236 ± 0,738

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

D'après le tableau ci-dessus, on constate que les teneurs en composés phénoliques varient entre 1,0120 et 374,576mg EAG/g d'extrait et entre 1,36 et 386,348 mg EAG/g d'extrait pour les deux plantes *A.radiatae* et *P.chloranthus* respectivement.

Le taux des composés phénoliques le plus élevé a été détecté dans l'extrait de la fraction du BuOH (386,348 mg/g) de la plante *P.chloranthus*. Les fractions d'AcEOt des deux plantes présentent des teneurs pratiquement similaires (375,430 et 374,576 mg/g d'extrait de *P.chloranthus* et *A.radiatae* respectivement). Les teneurs les plus faibles ont été enregistrées dans les (Ebr) des deux plantes avec 1,360 et 1,0120 mg/g d'extrait de *P.chloranthus* et de *A.radiatae* respectivement.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

L'activité anti-radicalaire est très importante du fait du rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques. La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydante de l'échantillon étudié est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH. Ce chromogène violet est facile à utiliser, a une grande sensibilité, permet l'analyse rapide de l'activité antioxydante d'un grand nombre d'échantillons et donne des résultats reproductibles (**Gulçin et coll., 2010**).

L'activité antioxydante des différents extraits des deux Plantes et des standards (Vitamine C et Trolox) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH[•]) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires **Majhenic et ses collaborateurs (2007)**.

L'effet piègeur des extraits hydrométhanoliques et leurs fractions issus des deux plantes vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par **Hansraj et ses collaborateurs (2006)**. Un volume de 2 ml de la solution de DPPH (7,8 mg dans 100 ml d'éthanol 80%) est mélangé avec 2 ml des solutions d'extraits ou des antioxydants standards (Vitamine C, Trolox) à différentes concentrations. Après 20 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

Les capacités antioxydantes de nos différents extraits et standards sont représentées par les valeurs d'EC₅₀ déterminées à partir des courbes représentant les pourcentages d'inhibition (PI%) en fonction des concentrations de chaque extrait et de chaque standard (**Figure 8, 9**).

Les valeurs d'EC₅₀ des extraits et des standards obtenues sont conciliées dans le

Tableau 2.

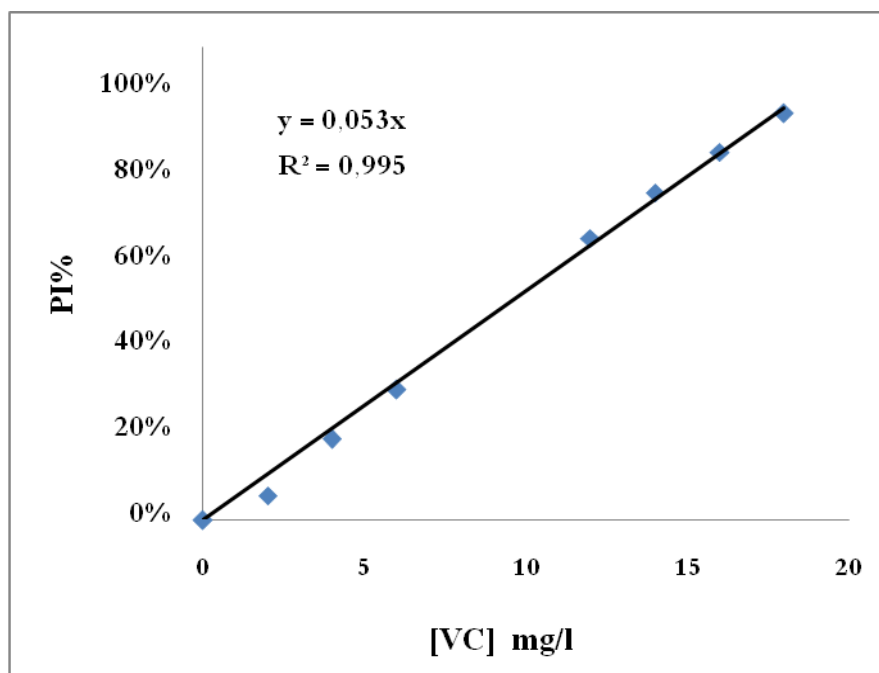


Figure 8: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de la VC

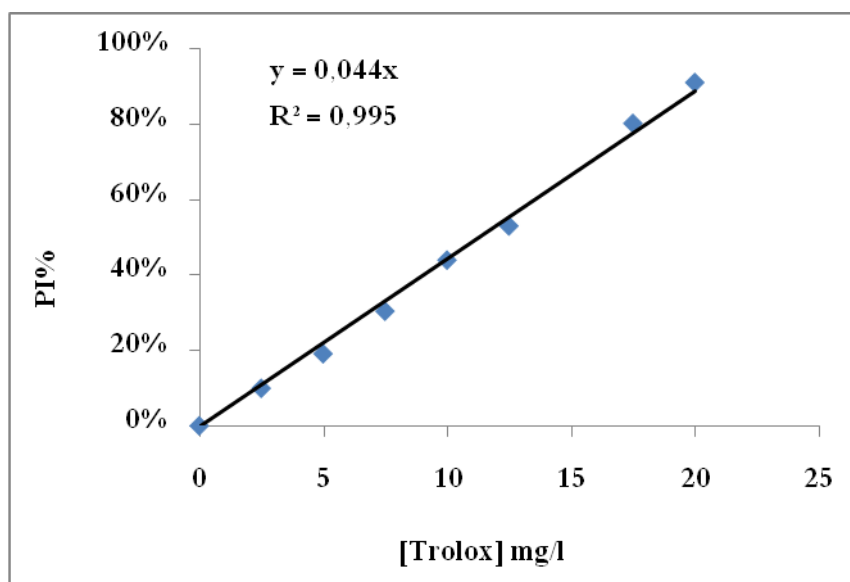


Figure 9: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de Trolox

Les résultats obtenus montrent que les extraits hydrométhanoliques et leurs fractions des deux Plantes *A.radiatae* et *P.chloranthus* ont une activité anti-radicalaire dans divers concentrations (**Figures 10 et 11**). On remarque aussi que les valeurs d'EC₅₀ des extraits testés varient considérablement.

Les valeurs d'EC₅₀ déterminées en mg/l exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de quantité initiale de DPPH.

En effet, la faible valeur EC₅₀ signifie la forte activité antioxydante. Dans notre étude, la concentration EC₅₀ de la fraction acétate d'éthyle d'*A.radiatae* et *P.chloranthus* présente une bonne activité du piégeage du radical DPPH (38,709 mg/l et 38,809 mg/l respectivement), ainsi le n-butanol représente une bonne activité 33,821 mg/l du piégeage du radical DPPH.

Toutes les fractions testées (AcOEt), (DCM), (BuOH) et (Ebr) ont provoqué une diminution importante de l'absorbance à 517 nm selon leurs concentrations de manière croissante. Il ressort que les valeurs de l'EC₅₀ des extraits phénoliques de *P.chloranthus* et *A.radiatae* et les antioxydants de référence se présentent dans l'ordre suivant :

VC < Trolox < AR(Ebr) < PC(BuOH) < AR(AcOEt) < PC(AcOEt) < PC(DCM) < PC(Ebr)
< AR (BuOH) < AR(DCM)

D'où :

PC : *P.chloranthus*.

AR : *A.radiatae*.

On constate que l'extrait brut d'*A.radiatae* et la fraction de n-Butanol de *P.chloranthus* présentent une activité antioxydante plus élevée que celle des autres fractions et d'extrait brut de *P.chloranthus*. Cette activité pourrait être liée à sa richesse en polyphénols.

Ces résultats s'expliqueraient non seulement par la richesse des extraits en composés phénoliques, mais aussi par la nature de leurs composés phénoliques hydrosolubles qui sont caractérisés par des groupements hydroxyles fortement impliqués dans l'activité anti-radicalaire (Robards et col, 1999). Selon (Turkmen et col, 2007), les polyphénols semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, parce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (Bourgou et col, 2008).

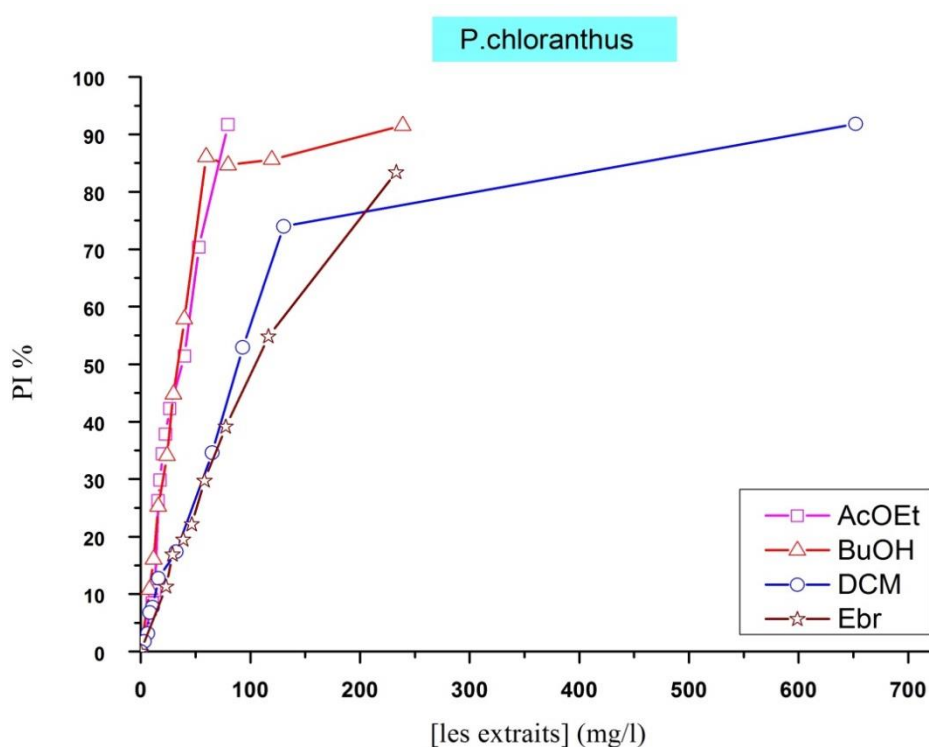


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration

de *P. Chloranthus*

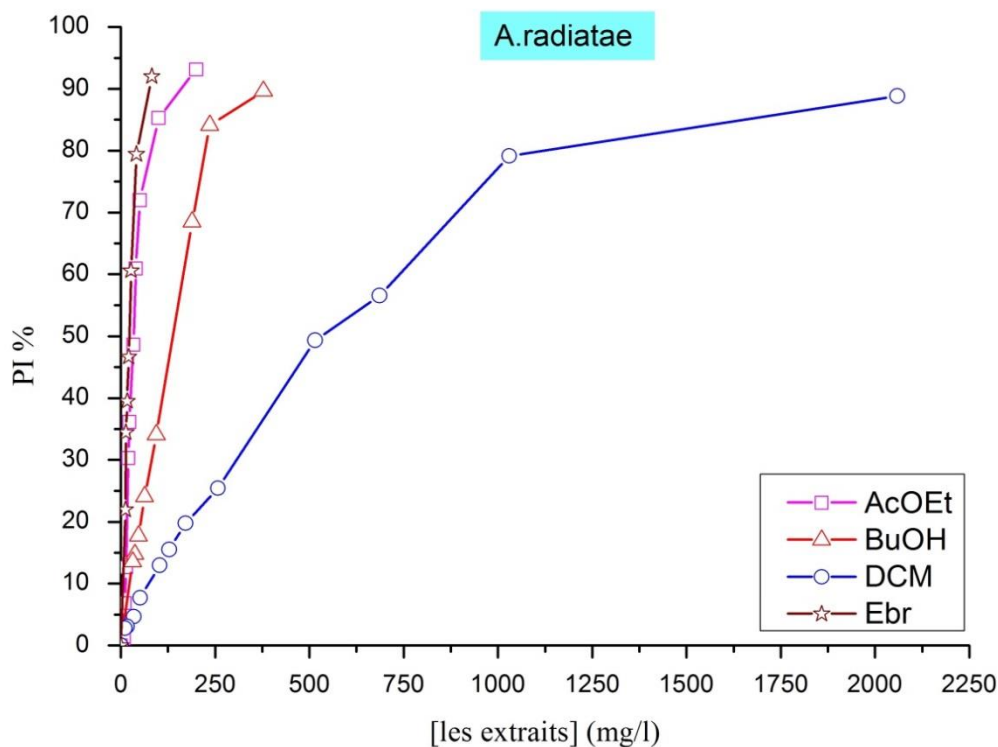


Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration
d'*A. radiatae*

Nous avons essayé de trouver une corrélation entre les valeurs d' EC_{50} et celles des teneurs en phénols totaux (**Figure 12**).

Nous avons enregistré une moyenne corrélation linéaire entre les valeurs d' EC_{50} des extraits phénoliques et les teneurs en phénols totaux ($R^2 = 0,67$).

Donc l'activité antioxydante dépend essentiellement du nombre des structures précises d'un groupement hydroxyle, mais nous avons pris l'extrait complet qui contient plusieurs composés phénoliques.

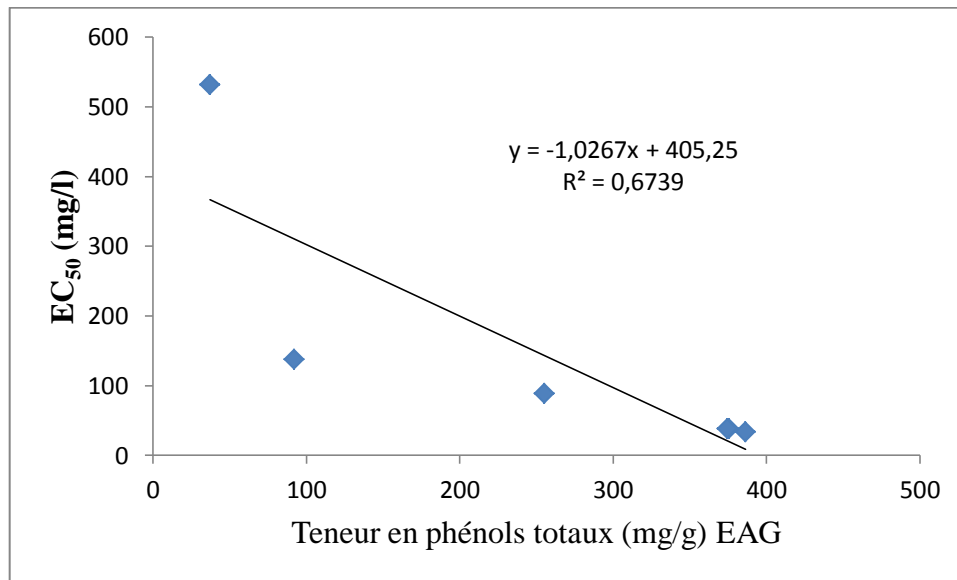


Figure 12 : La variation de la teneur en EC₅₀ en fonction de la teneur en phénols totaux

IV. CONCLUSION

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, et d'autre part, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquelles on attribue des capacités antioxydantes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à la quantification des phénols totaux et à la mesure du pouvoir antioxydants des extraits bruts et de leur fractions de deux plantes médicinales : *Anvillea radiatae* et *Pituranthos chloranthus*, largement utilisées en médecine traditionnelle dans le sud Algérien.

Les résultats obtenus ont montré la bonne activité antioxydante de certains extraits tels que l'extrait brut de *A.radiatae* et la fraction BuOH de *P.chloranthus*.

Par ailleurs, nous avons pu relier l'activité antioxydante des fractions à la présence des composés phénoliques.

Ainsi, des études complémentaires restent nécessaires pour approfondir les résultats obtenus et déterminer les molécules actives responsables de cette activité.

Références

- ❖ AbdNacer, H(2012), Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus, mémoire magister, université ferhat abbas-sétif; p 95.
- ❖ Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila,A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian Nigella sativaL. shoots and roots.C. R. Biologies, 331: p 48–55.
- ❖ Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C (1995), Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensm. Wiss. Technol. 28: p 25-30.
- ❖ Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R (2005), Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole; p 554-558.
- ❖ Gulçin İ, Kirecci E, Akkemik E, Topal F, Hisar O (2010), Antioxidant and antimicrobial activities of an aquatic plant: Duckweed (Lemna minorl.). Turk. J. Biol. 34: p 175-188.
- ❖ Hansraj, D., Ou, B., Prior, R.L (2006), The chemistry behind antioxydant capacity assay. Jornal of Agricultural and Food chemistry, 1841-1856, p 53.
- ❖ Kim D.-O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H.-Y., Lee C.Y (2003), Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. J. Agric. Food Chem. P 51, 6509-6515.
- ❖ Majhenic L., kerget M.S., et Knez Z (2007), Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry,1258–1268, p104.
- ❖ Molyneux P (2004), The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. Songklanakarin J.Sci. Technol.26 (2), p 211-219.

- ❖ Peksel, A., Arisan-atac, I., & Yanardag, R (2010), Antiacetyl Choline Sterase Activities of thé, p 1–26.1745-4514.
- ❖ Robards, M.D., Piatt, J.F., Rose, G.A., (1999). Maturation, fecundity, and intertidal spawning of Pacific sand lance (*Ammodytes hexapterus*) in the northern Gulf of Alaska. *J. Fish. Biol*, 1050–1068, p54.
- ❖ S.Djemai Zoughlache (2008), Étude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus*, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhdar –Batna).p 12.
- ❖ SALEM, J. H (2009), Extraction, Identification, Caractérisation des Activités Biologiques de Flavonoides, L'institut National polytechnique de lorraine, thèse doctorat, p 125–130.
- ❖ Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat,G (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*: 484-496, p12.

ملخص البحث:

إن الأبحاث العلمية الحديثة لعلم النباتات الطبية تهتم أساساً بدراسة النشاط المضاد للأوكسدة في الجزيات الطبيعية، هذه الدراسة تعتمد على التحليل النوعي لمستخلصات نبتتي القزاح والنقد لمنطقة غرداية (الجزائر).

في هذا السياق من خلال الدراسة التجريبية حاولنا تقدير النشاط المضاد للأوكسدة لمختلف المستخلصات الفينولية لنبتتي القزاح (*Pituranthos chloranthus*, *Anvillae radiatae*). أثبتت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية أنها تحتوي على الترتيب بين 1,36 إلى 386,348 و 1,012 إلى 374,576 ميليغرام مكافئ حمض الغاليك/ غرام من المادة الخام، أما عن نتائج تعيين القدرة على مقاومة الجذور الحرة مقارنة بمضادات الأوكسدة المعيارية، أثبتت النتائج أنّ مستخلص "n-butanol" يمتلك قدرة عالية على مقاومة الجذور الحرة بمقدار 33,821 ميليغرام/في اللتر لنبته القزاح ومستخلص الخام (Ebr) بمقدار 22,306 ميليغرام/في اللتر لنبته النقد. من خلال النتائج التجريبية خلصنا إلى أن مستخلص "acétate d'éthyle" و مستخلص "n-butanol" والمستخلص الخام (Ebr) لنبتتي النقد والقزاح يمتلكان قدرة عالية على مقاومة الجذور الحرة وكمية معتبرة من المركبات الفينولية الكلمات المفتاحية: النقد، القزاح، الجزيات الطبيعية، القدرة المضادة للأوكسدة، المركبات الفينولية، كيموضوية.

Résumé

La recherche actuelle porte essentiellement sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. Cette étude s'inscrit dans cette optique et consiste à faire dans un premier temps un criblage phytochimique de quelques extraits de *Pituranthos chloranthus* et d'*Anvillae radiatae*, des plantes endémiques de la région de Ghardaïa (Algérie).

Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante des extraits phénolique préparés à partir de *Pituranthos chloranthus* et d'*Anvillae radiatae*. L'analyse quantitative de ces extraits en composés phénoliques, a donné des teneurs allant de (1,360 à 386,348 et 1,012 à 374,576 (mg/g) EAG de résidu sec respectivement).

L'évaluation quantitative du pouvoir piègeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que la fraction de n-butanol est les plus actifs, avec des EC_{50} de l'ordre de 33,8213 mg/l pour la plante *Pituranthos chloranthus* et l'extrait brut est les plus actifs, avec des EC_{50} de l'ordre de 22,306 mg/l pour la plante d'*Anvillae radiatae*.

D'après les résultats obtenus dans ce travail, on peut dire que *Pituranthos chloranthus* et d'*Anvillae radiatae* possèdent une activité antioxydante considérable qui est localisée principalement dans le fraction d'acétate d'éthyle et le fraction, extrait brut et "n-butanol".

Mots clés: *Pituranthos chloranthus*, *Anvillae radiatae* molécules antioxydantes, Activité antioxydante, les composés phénoliques, phytochimique.

Abstract

Current research relates primarily to the study of antioxydant molecules of natural origin. This study is registered accordingly and consisted in initially making a *phytochimic* sifting of some extracts of *Pituranthos chloranthus* and *Anvillae radiatae*, endemic plants of the area of *Ghardaïa* (Algeria).

In this context we tried to evaluate the antioxydant activity of the extracts phenolic prepared starting from *Pituranthos chloranthus* and of *Anvillae radiatae*. The quantitative analysis of these extracts in phenolic compounds, gave contents going from (1,360 to 386,348 and 1,012 to 374,576 (mg/g) EAG of dry residue respectively).

The quantitative evaluation of the capacity trapper of the extracts with respect to the DPPH confirms that the fraction of n-butanol is most active, with EC_{50} of about 33,8213 mg/l for the plant *Pituranthos chloranthus* and the rough extract is most active, with EC_{50} of about 22,306 mg/l for the plant of *Anvillae radiatae*.

According to the results obtained in this work, one can say that *Pituranthos chloranthus* and of *Anvillae radiatae* have a considerable antioxydant activity which is localised mainly in the fraction of ethyl acetate and the fraction, extracts gross and "n-butanol" **Key words:** *Pituranthos chloranthus*, *Anvillae radiatae*, antioxydant molecules, Activity antioxydant, phenolic compounds, phytochimic.