

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

Université Amar TELIDJI Laghouat  
Faculté des Sciences  
Département de Biologie

جامعة عمار ثليجي - الأغواط  
كلية العلوم  
قسم البيولوجيا



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

*En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie*

*Option : génie biologique*

### *THÈME*

*Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des  
extraits de quelques plantes médicinales*

Présenté par :

BOUHAMIDA Amel

BOUNOUA Hadda

Encadré par :

Mr. BOUKEROUIS Djoudi

2011/2012

- **Mémoire préparé par :** M<sup>elle</sup> Bouhamida, A ; M<sup>elle</sup> Bounoua, H.  
 - **Thème :** contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits de quelques plantes médicinales.

### Résumé:

Le présent travail a été réalisé pour étudier les propriétés antioxydantes des extraits de quatre plantes médicinales : *C. albidus*, *C. azarolus*, *R. alaternus*, *R. raetam*, utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de certaines maladies liées aux complications inflammatoires. En effet, les quatre extraits éthanoliques des plantes ont été évalués pour leur teneur en phénols totaux et en flavonoïdes et aussi pour leur activité antioxydante ; pouvoir anti-radicalaire contre : l'ABTS, le DPPH et l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et leur pouvoir réducteur en appliquant le test de phosphomolybdate. Les résultats de dosage montrent que les feuilles de *C. albidus* sont les plus riches en phénols totaux (384,22 mg EAG/g) suivie par l'extrait de *C. azarolus* (322,00 mg EAG/g). Pour le dosage des flavonoïdes, ces deux dernières plantes ont manifesté des taux intéressants avec elles aussi l'extrait de *R. alaternus* (189,39 mg EAG/g). S'agissant de l'activité antioxydante, l'extrait de *C. albidus* s'est distingué des autres plantes en marquant les IC<sub>50</sub> les plus importantes: 3,84 µg/ml pour l'effet anti-DPPH, 16,32 µg/ml pour l'effet anti-ABTS et 0,44 mg pour l'effet anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Tandis que l'extrait de *R. raetam* s'est montré le plus faible d'après les résultats obtenus. Les corrélations établies entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante des extraits des plantes ont montré des coefficients positifs indiquant ainsi que les composés phénoliques sont les molécules antioxydantes majoritaires des plantes étudiées.

**Mots clés :** *C. albidus*, *C. azarolus*, *R. alaternus*, *R. raetam*, composés phénoliques, activité antioxydante, DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ABTS, phosphomolybdate.

دراسة الخاصية المضادة للأوكسدة لبعض مستخلصات النباتات الطبية

ملخص:

هدفنا الرئيسي هو دراسة الخاصية المضادة للأوكسدة لأربع نباتات جزائرية\* مستعملة في الطب التقليدي (طب الأعشاب) لمعالجة بعض الأمراض التي تصيب جسم الإنسان وذلك باستخلاص مركباتها الفينولية المسؤولة على تثبيط الجذور الحرة DPPH, ABTS ومركب H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تراوحت كمية المركبات الفينولية الكلية بين 179.76 مغ/غ مكافئ حمض الغاليك و 384.22 مغ/غ مكافئ حمض الغاليك سجلت كأعلى نسبة لمستخلص أوراق *Cistus albidus* بينما تراوحت نسبة الفلافونويدات بين 62.12 مغ/غ مكافئ الروتين و 188.47 مغ/غ مكافئ الروتين كذلك لنفس المستخلص.

بينت نتائج السابقة الذكر أن لهذه النباتات قدرة كبيرة على تثبيط الجذور الحرة خاصة نبات *Cistus albidus* بقيمة تساوي 3.84 و 16.32 بالنسبة لتجارب DPPH, ABTS بالتتابع بينما مستخلص نفس النبات اظهر قدرة كبيرة على تفكيك H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بنسبة 73.51 % كما لوحظ وجود علاقة خطية ممتازة بين كمية المركبات الفينولية و الخاصية المضادة للأوكسدة

\*: *Cistus albidus*, *Crataegus azarolus*, *Rhamnus alaternus*, *Retama raetam*  
 الكلمات المفتاحية: المركبات الفينولية, الفعالية المضادة للأوكسدة, DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, phosphomolybdate

*Cistus albidus*, *Crataegus azarolus*, *Rhamnus alaternus*, *Retama raetam*

Miss Bouhamida, A and Miss Bounoua, H.

**Theme:** Contribution to the study of the antioxidant activity of some medicinal plants extracts.

**Abstract:**

The present work was initiated to investigate the antioxidant properties of extracts of four medicinal plants: *C. albidus*, *C. azarolus*, *R. alaternus*, *R. raetam*, used in traditional medicine for the treatment of diseases related to inflammatory complications. Indeed, the four ethanolic extracts of the plants were evaluated for their total phenolic content and flavonoids as well as for their antioxidant activity, anti-radical power against: ABTS, DPPH and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and reducing power in applying the test of phosphomolybdate. The results show that the leaves of *C. albidus* are richer in total phenols (384.22 mg EAG/g) followed by the extract of *C. azarolus* (EAG 322.00 mg / g). Concerning the determination of flavonoid content, the last two mentioned plants showed good rates with them also from *R. alatenus* (189.39 mg EAG/g). Regarding the antioxidant activity, the extract of *C. albidus* is distinguished from other plants by marking most important IC<sub>50</sub>: 3.84 mg / ml against DPPH, 16.32 mg / ml and 0.44 mg ABTS against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. While the extract of *R. raetam* has shown the lowest of the results obtained. The correlations among the total phenolic content and antioxidant activity of plant extracts have shown positive coefficients indicating that the phenolic compounds are antioxidant molecules majority of plants studied.

**Keywords:** *C. albidus*, *C. azarolus*, *R. alaternus*, *R. raetam*, phenolics, antioxidant activity, DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ABTS, phosphomolybdate.

# *Dédicace*

*Avant tout, c'est grâce à ALLAH que je suis arrivée là.*

*Je dédie ce modeste travail, tout d'abord :*

*à la lumière de ma vie, ma mère, qui ma toujours aidée et soutenue par ses prières et sa tendresse. Qu'ALLAH me la garde et la protège. Qui m'a fait tout possible pour moi.*

*à mon très cher père pour sa patience et le sacrifice*

*qu'il consenti à mon égard durant mes études.*

*à mes chers frères Brahim, Youcef et mes sœurs Karima, soundous,*

*à tout ma famille sans exception*

*à mes amies : Nadjat, Aicha, Noor-el-houda, Fatima K, Fatima S, Fatima L, Meriem B, Fatima B, Faiza, Zohra H, Aicha B, Mbarka B, Aicha L, Naima, Fatima O.*

*à mon binôme Hadda et toute sa famille*

*et à tout ceux que j'aime et qui m'aiment.*

*à tous mes collègues de promotion 2011\_2012 de Génie Biologique*

*Amel*



*AMEL*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail,*

*à mes très chers parents, pour leur patience, et leurs sacrifices.*

*Qu'ALLAH leurs prête santé et prospérité ;*

*à mes sœurs, surtout Rabia, mes frères, surtout Lakhdar et Ismail pour  
leur patience ;*

*à mon fiancé Mohammed Amine qui n'a jamais cessé de croire en moi  
source d'amour et de tendresse. Qu'ALLAH le protège ;*

*à toute ma famille sans exception ;*

*à mes enseignants de l'école primaire jusqu'à l'université, dont les  
conseils précieux m'ont guidée ; qu'ils trouvent ici l'expression de ma  
reconnaissance,*

*à mon binôme Amel et à sa famille ;*

*à mes amies et tous les gens qui m'aiment ;*

*à tous mes collègues de la promotion 2011\_2012.*

*Hadda*



# Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions ALLAH, Le Tout Puissant, de n'avoir donné la force et la patience.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Monsieur Boukerouis Djoudi pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordée nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos enseignants du département de biologie, qui nous ont donnée les bases de la science.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements aux membres du jury d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examineur.*

*Nous aimerions exprimer notre gratitude à tous nos enseignants pour leurs nombreux conseils tant scientifiques que techniques. Nous avons beaucoup appris avec eux sur les différents domaines, ceux qui nous ont donné un bagage pour la suite de nos carrières.*

*Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à nos familles pour leur amour, leur patience et leur sacrifice durant nos études.*

*Enfin, un grand remerciement à l'ensemble des personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> médicaments traditionnels à base de plantes.....	<b>9</b>
<b>Tableau 2:</b> taux d'extraction des différentes plantes étudiées.....	<b>40</b>
<b>Tableau 3 :</b> teneur en phénols totaux des extraits des plantes.....	<b>42</b>
<b>Tableau 4:</b> teneur en flavonoïdes des extraits éthanoliques des plantes.....	<b>44</b>
<b>Tableau 5 :</b> valeurs des IC <sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-DPPH.....	<b>48</b>
<b>Tableau 6 :</b> valeurs des IC <sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-ABTS.....	<b>51</b>
<b>Tableau 7:</b> pouvoir antioxydant des extraits de plantes.....	<b>55</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Principaux acides hydroxybenzoïques.....	14
<b>Figure 2</b> : Principaux acides hydroxycinnamiques (« phénylpropanoïdes »).....	15
<b>Figure 3</b> : les principales classes de flavonoïdes.....	16
<b>Figure 4</b> : Quelques exemples de composés phénoliques particuliers.....	17
<b>Figure 5</b> : unités élémentaires des tannins hydrolysables. A) Acide éllagique. B) penta-galloylglucos (acide tannique).....	18
<b>Figure 6</b> : Exemple de structure d'un tannin condensé.....	19
<b>Figure 7</b> : les monolignols dérivés des acides hydroxycinnamiques et leur intégration dans la lignine .....	20
<b>Figure 8</b> : Quelques exemples de composés phénoliques d'intérêt thérapeutique.....	22
<b>Figure 9</b> : origine des différents radicaux libres et espèces réactifs de l'oxygène impliqué en biologie.....	26
<b>Figure 10</b> : Sites de chélation des métaux par les flavonoïdes.....	27
<b>Figure 11</b> : mécanisme moléculaire de l'effet antiradicalaire des flavonoïdes.....	28
<b>Figure 12</b> : photo de <i>Crataegus azarolus</i> .....	31
<b>Figure 13</b> : photo de <i>Rhamnus alaternus</i> .....	31
<b>Figure 14</b> : photo de <i>Cistus albidus</i> .....	32
<b>Figure 15</b> : photo de <i>Retama raetam</i> .....	33
<b>Figure 16</b> : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	41
<b>Figure 17</b> : courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine pour le dosage des flavonoïdes.....	43
<b>Figure 18</b> : activités anti-DPPH des extraits et le standards à 100 µg/ml.....	46
<b>Figure 19</b> : effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de <i>R. alaternus</i> et <i>R.raetam</i> .....	47
<b>Figure 20</b> : effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de <i>C. albidus</i> et <i>C. azarolus</i> .....	47
<b>Figure 21</b> : cinétique de l'activité anti-DPPH des extraits des plantes en fonction du temps.....	49
<b>Figure 22</b> : effet anti-ABTS des extraits des plantes à 100 µg/ml.....	50
<b>Figure 23</b> : effet de l'activité anti-ABTS des extraits à différentes concentrations.....	50
<b>Figure 24</b> : cinétique de l'effet anti-ABTS des extraits de plantes en fonction du temps.....	52

<b>Figure 25</b> : effet anti-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> des extraits des plantes à une concentration de 1 mg/ml.....	<b>53</b>
<b>Figure 26</b> : effet anti-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> des extraits des plantes à différentes concentrations.....	<b>53</b>
<b>Figure 27</b> : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique.....	<b>54</b>
<b>Figure 28</b> : la corrélation entre la teneur des extraits des plantes en phénols totaux et les différents tests d'évaluation des activités antioxydantes.....	<b>56</b>
<b>Figure 29</b> : la corrélation entre la teneur des extraits des plantes en flavonoïdes et les différents tests d'évaluation des activités antioxydantes.....	<b>57</b>



## Liste des abréviations

**Abs** : absorbance.

**ABTS** : 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-acide sulfonique.

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium.

**°C** : Degré Celsius.

**DPPH** : 2,2-diphénylpicrylhydrazyl.

**EAG** : équivalent acide gallique.

**ER** : équivalent rutine.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène.

**g** : gramme.

**IC<sub>50</sub>** : concentration à 50% d'inhibition.

**LDL**: Low Density Lipoprotein.

**mg** : milligramme.

**min** : minute.

**ml** : millilitre.

**mM** : millimolaire.

**Mo** : molybdène.

**NaOH** : hydroxyle de sodium.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : bicarbonates de sodium.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : anion Superoxyde.

**OH** : hydroxyle d'hydrogène.

**OH<sup>•</sup>** : radical hydroxyle.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**pH** : potentiel hydrogène.

**RCOO<sup>•</sup>** : le peroxyde.

**s**: seconde.

**UV** : ultraviolet.

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

**μ** : micro.

## Introduction

Un grand nombre de plante, aromatique, médicinale, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante, antimicrobienne, antitumorale et anti-inflammatoire, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales. Ces plantes représenteraient une nouvelle source de composés actifs qui se présentent généralement par leurs métabolites secondaires.

En effet, ces derniers font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles.

En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydant telles que les tumeurs, les maladies cardiovasculaires ou maladies inflammatoires (**Macheix *et al.*, 2005**).

Ces pathologie, étant déjà traitées d'une manière traditionnelle avec les plantes médicinales, alors il est fort probable d'y dégager des molécules de nature phénolique qui agissent spécifiquement contre ces pathologies via leurs propriétés antioxydantes.

D'ailleurs, c'est dans cet objectif que s'inscrit notre étude en tentant d'étudier l'activité antioxydante des extraits de quatre plantes médicinales en l'occurrence : *Crataegus azarolus*, *Rhamnus alaternus*, *Cistus albidus* et *Retama raetam*. Elles sont récoltées de différents régions du Nord de l'Algérie à fin de valider leur usage traditionnel et les renforcer avec des données scientifiques dans l'espoir un jour, on les exploite dans le domaine pharmaceutique.

Pour transparaitre l'idée générale de ce travail, il a été convenu de commencer par la présentation de la partie bibliographique, où les plantes médicinales et leurs métabolites secondaire, notamment les polyphénols, sont abordés. La deuxième partie porte sur la procédure expérimentale menée. Cette partie, à porter sur l'extraction et dosage des composés

phénoliques des espèces étudiées et la présentation des protocoles d'évaluation de l'activité antioxydante : test antiradicalaire contre le radical DPPH, ABTS, la capacité de détruire le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en fin le pouvoir antioxydant en utilisant le phosphomolybdate. Dans la quatrième partie, il a été rapporté les résultats obtenus et leur analyse. En fin, on termine, ce travail, par une conclusion générale et perspectives de cette étude.

## I. La phytothérapie et les plants médicinales

### I.1. Historique

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le *métabolisme secondaire*. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av .J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (**Fouché et al., 2000 in Mohammedi, 2006**).

Dans les civilisations chinoise, indienne (médecine ayurvédique) ou aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicale, le Shen Nung Ben Cao Jing ("Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung"), fut rédigé vers 2900 avant J.-C. 4000 ans avant J.-C., les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens. Le soin de la peau a commencé 3000 ans avant la naissance du Christ, quand les Egyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures de mur de temple (**Dweck, 2002 in Mohammedi, 2006**).

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5<sup>ème</sup> siècle av .J.-C.), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs). Théophraste (370-285 av. J.-C.) classe les plantes dans son ouvrage *Historia plantarum* (**Fouché et al., 2000 in Mohammedi, 2006**).

À l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde à l'Espagne), tous les documents écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande bibliothèque de l'époque (entre le 7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> siècle). Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Bakr al-Razi ou Rhazès (865-925), fut l'un des grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivit le "*Canon de la médecine*". Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650 (**Fouché et al., 2000 in Mohammedi, 2006**).

### I.2. La phytothérapie

La phytothérapie, ou la médecine par les plantes est la plus ancienne forme de traitement connue. Cette discipline, utilise les plantes seules ou en association pour traiter la maladie et se maintenir en bon état de santé. Contrairement aux médicaments conventionnels, dont le produit actif est extrait de plantes médicinales, la phytothérapie utilise en général les plantes dans leur ensemble. Les remèdes phytothérapeutiques sont disponibles sous forme d'extraits (solutions obtenues par l'infusion ou la macération d'une substance, en générale dans l'eau), de teinture (en générale dans l'alcool, agissant comme conservateur naturel), les tisanes, les comprimés, les poudres et même les lignes mouillés à appliquer sur la peau (**Beer et al., 2007**).

### **I.2.1. Les avantages de la phytothérapie**

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Les plantes médicinales sont faciles à utiliser, seraient potentiellement efficaces et peu coûteuses. Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Zeghad, 2008**).

On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels (**Zeghad, 2008**).

Malgré les progrès la phytothérapie a préservé sa popularité quelque soit dans les pays en développement, où la pauvreté oblige aux populations l'utilisation des remèdes naturels qui sont souvent les seuls disponibles dans les régions isolées, et aussi de faible prix par rapport aux médicaments modernes (**Ramawat, 2009**),ou bien dans les pays industrialisés (**Beers et al., 2007 ;Ramawat, 2009**).

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diadoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Zeghad, 2008**).

Selon les estimations de l'OMS, plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (**Hamza, 2011**).

### **I.2.2. Exemples de pathologies traitées par les plantes médicinales**

Des publications anciennes et récentes ont en effet rapporté qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de diverses maladies (**Hamza, 2011**).

Molassiotis et ses collaborateurs (2009) indiquent dans leur revue que 91% des patients qui souffrent du cancer utilisent au moins une forme de la médecine complémentaire, et la plupart d'entre eux pratiquent la phytothérapie, notamment la médecine traditionnelle chinoise. Les formulations naturelles des plantes médicinales peuvent avoir plusieurs effets biologiques qui peuvent être exprimés par plusieurs mécanismes : l'induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses, renforcement du système immunitaire...etc. (**Molassiotis et al., 2009**).

Quelques maladies neuro-dégénératives peuvent également être soignées par la phytothérapie ; l'Alzheimer par exemple qui peut toucher selon une estimation de l'OMS, environ 35 millions de personnes dans les pays industrialisés en 2010 (**Adams et al., 2007**). On peut citer aussi le cas de Malaria, une maladie parasitaire causée par le *Plasmodium*, qui affecte plus de 350-500 millions de personnes, avec une mortalité de 2 à 3 millions chaque année. En Afrique plus de 80% de la population utilise les remèdes phytothérapeutiques pour le traitement de cette maladie (**Asase et Oppong-Mensah, 2009**).

Le diabète constitue un problème de santé publique. En Afrique, la prise en charge des diabétiques nécessite des moyens importants et n'est pas toujours à la portée de la majeure population (**Diallo et al., 2004**). De nombreuses plantes utilisées en Algérie possèdent une action antidiabétique avec un usage fréquent dans une grande partie de la population. Parmi ces plantes, certaines ont un effet déjà mis en évidence telles que : *Trigonella foenum-graecum*, *Artemisia herba-alba*, *Nigella sativa*, *Zygophyllum album*, *Urtica dioica*,

*Globularia alypum*. Cependant, un grand nombre de plantes réputées antidiabétiques n'a pas encore fait l'objet d'études expérimentales (**Hamza, 2011**).

Autres maladies comme la migraine, l'anxiété, l'allergie, l'épilepsie, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires peuvent être également soignées par la phytothérapie (**Nsour et al., 2000 ; Ernest, 2006 ; Chagan et al., 2005 ; Baldé et al., 2006 ; Tahraoui et al., 2007 ; Molassiotis et al., 2009 ; Kraft, 2009 ; Suzuki et al., 2009**).

### **I.2.3. Les risques associés à la phytothérapie**

Bien que le public et certains professionnels de santé croient que les phyto-médicaments sont relativement inoffensifs parce qu'ils sont « naturels » (**Fragroso et al., 2008**), plusieurs études, publications et articles scientifiques récents ont montré les conséquences sévères des effets secondaires de ces produits (**Cseke et al., 2006 ; Fragroso et al., 2008**), d'où vient l'intérêt des études pharmacologiques et cliniques pour évaluer l'efficacité et sûreté des phyto-médicaments, et en général des plantes médicinales (**Beers, 2007 ; Fragroso et al., 2008**).

Les effets secondaires des plantes médicinales et de leurs extraits peuvent aller à des symptômes gastro-intestinaux doux, réactions allergiques, complications neurologiques, hépato-toxicité, néphro-toxicité, et parfois la mort (**Berrin et al., 2006 ; Cseke et al., 2006 ; Shaohua et al., 2006**). Ils peuvent avoir lieu à travers différents mécanismes, citant par exemple la toxicité. Ce sont généralement les alcaloïdes qui sont responsables de cet effet, qui s'exprime par des nausées, diarrhées, réactions cutanées et même d'une hépato-toxicité ou une neuro-toxicité (**Cseke et al., 2006 ; Fragroso et al., 2008**). Cet effet peut être référé à la consommation des suppléments alimentaires adultérés, non contrôlés, contenant des plantes toxiques, des ingrédients actifs de quantité et de qualité inconnues (**Cseke et al., 2006**), ou à l'utilisation prolongée d'un remède de phytothérapie (**Kraft, 2009**).

Certains alcaloïdes se transforment, dans le foie, par déshydrogénation en dérivés toxiques plus actifs, qui causent des nécroses hépatique graves, c'est l'exemple des alcaloïdes pyrrolizidine de *Symphytum officinale*. D'autre part, la neurotoxicité se produit lorsqu'un phyto-composé bloque la transmission du flux nerveux, c'est par exemple le cas de la scopolamine de *Datura stramonium* ; un alcaloïde qui bloque la neurotransmission par l'acétylcholine ; le neuromédiateur le prédominant dans le système nerveux parasympathique. La toxicité par le *Datura* peut s'exprimer par plusieurs symptômes, tels que la déshydratation

de la bouche, troubles de vision, de la peau sèche, désorientation, excitabilité, tachycardie, et parfois un arrêt cardiaque, et alors à la mort (Cseke *et al.*, 2006).

### I.3. Exemples des médicaments à base de plantes médicinales

De nos jours entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (Anonyme, 2012). Plusieurs molécules isolées des plantes sont devenues des médicaments efficaces : citons par exemple le taxol issu de *Taxus baccata* L. (Taxaceae) pour ses propriétés anticancéreuses remarquables (cancer de l'ovaire et cancer du sein) et de l'artémisinine isolée d'*Artemisia annua* L. (Asteraceae) pour ses propriétés antipaludiques (Cheriet, 2011).

Dans le tableau ci-dessous, quelque exemples de médicaments à base de plantes sont cités.

**Tableau 1** : médicaments traditionnels à base de plantes

Nom du produit	Présentation admise
ACTIVOX EXPECTORANT, pastille	24 pastilles
ARKOGELULE FUCUS, gélule	45 gélules
ARKOGELULE BALLOTE, gélule	45 gélules
EPIDERMINE, crème	50g
ARNICA MEDIFLOR, gel	50g
EUPHON MENTHOL, pastille	70 pastilles
EUPHYTOSE, comprimé enrobé	40 et 120 comprimés
GUARAMATE, gélule	180 gélules
NOCVALENE ADULTES, gélule	30 gélules
PLENESIA, comprimé enrobé	20, 20 et 60 comprimés

(Anonyme, 2012).

### I.4. Réglementation des médicaments à base de plantes

La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de contrôler, bien que cela varie fortement selon les pays.

Les contrôles législatifs relatifs aux plantes médicinales n'ont pas évolués autour d'un modèle de contrôle structuré. Les pays définissent de différentes manières les plantes médicinales ou les simples produits qui en sont tirés, et ils ont adopté plusieurs approches de l'octroi de licences, de la préparation, de la fabrication et de la commercialisation en vue d'assurer leur innocuité, leur qualité et leur efficacité.

Les critères de sélection des remèdes essentiels tirés des plantes doivent être principalement l'innocuité, l'efficacité, les besoins de santé et la disponibilité. Sur la base de la liste approuvée de plantes médicinales de chaque pays, la politique doit indiquer clairement comment l'approvisionnement de ces plantes médicinales sera assuré. La procédure d'approvisionnement doit inclure la récolte, la culture, la production et le traitement des locaux, les importations et la conservation.

La croissance de l'industrie pharmaceutique et le développement incessant de nouveaux produits médicaux synthétiques et biologiques plus efficaces n'a pas diminué l'importance des plantes médicinales dans beaucoup de sociétés. Au contraire, la croissance démographique dans le monde en développement et l'intérêt croissant manifesté dans les nations industrialisées ont considérablement augmenté la demande pour les plantes médicinales elles-mêmes et les produits qui en sont tirés. Les réglementations relatives à l'évaluation de la qualité, de l'innocuité et de l'efficacité des plantes médicinales dans les pays et les activités de l'OMS en vue d'appuyer la préparation de lignes directrices types pour renforcer la reconnaissance du rôle que les plantes médicinales jouent dans le domaine thérapeutique. On espère que l'évaluation de ces remèdes traditionnels deviendra le fondement d'une classification future des médicaments à base de plantes et permettra de mener des études en vue de juger de leur efficacité et de leur innocuité ainsi que de leur utilisation potentielle dans les systèmes nationaux de soins de santé de différentes régions du monde. (Anthoula, 2003).

### **I.5. Actualité de l'exploitation des plantes médicinales dans le monde**

En Europe, le commerce mondial des plantes aromatiques et médicinales (matériel végétal) est évalué à près de 0.5 millions de tonnes pour une valeur qui avoisine 1.5 milliards de dollars. Cinq pays européens font partie des 12 plus grands pays importateurs au monde de plantes aromatiques et médicinales: l'Allemagne, l'Espagne, la France, l'Italie et le Royaume-Uni. L'Europe, dans son ensemble, joue un rôle prépondérant dans le commerce international de ces plantes, le quart des importations annuelles du monde entier lui revenant. Au cours des dernières années, l'Europe a importé annuellement, en moyenne, 120.000 tonnes de plantes médicinales et aromatiques provenant de plus de 120 pays différents.

Trois pays européens se classent également parmi les 12 plus grands pays exportateurs de plantes médicinales et aromatiques, l'Allemagne, la Bulgarie et la Pologne.

En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne.

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Hamza, 2011**).

Toutefois, en Algérie de nos jours, des plantes sous forme brute sont de plus en plus utilisées dans des magasins de produits naturels, dans des pharmacies ou chez des herboristes. De nombreux médicaments ont été conçus à l'origine à partir de plantes utilisées traditionnellement ; Orchis mâle, Renouée, Cognassier (anti diarrhéiques), Lavande, Myrte, Basilic, Thym (antiseptiques), Camomille, Petite centaurees, Saule (fébrifuge) et Stramoine (**Abdelguerfi et Ramdane, 2003**).

En Algérie, pays avec plus de 3000 espèces dont 15% endémiques, auxquelles la population a recours à la médecine traditionnelle, on commence à entreprendre des systématiques portant sur des plantes médicinales issues de sa flore. Sur cet ensemble, la flore saharienne correspond quand à elle approximativement à 400 genres et 1 100 espèces

Il faut toutefois noter qu'une grande partie des plantes médicinales d'Algérie sont inventoriées avec leurs effets, cependant le marché de la phytothérapie traditionnelle est occupé par un petit nombre d'espèces (armoise blanche, thym, sauge à feuilles de verveine, ...etc.), alors que les principes actifs sont contenus dans une très large gamme de plantes cultivées et spontanées telles que : Les arbres fruitiers cultivés et rustiques, les arbres forestiers, les cultures maraichères, les plantes ornementales, les plantes aromatique, les plantes spontanées (**Abdelguerfi et Ramdane, 2003**).





## II. les composés phénoliques et leur effet antioxydant

### **II.1. Généralité sur les métabolites secondaires**

Les plantes produisent un grand nombre de composés. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires. Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie.

Les métabolites secondaires des végétaux sont des molécules qui constituent très souvent la clé de voûte du système d'interactions entre les plantes et leur environnement. La plupart des métabolites secondaires des végétaux sont des phytoalexines, c'est-à-dire des molécules biologiquement actives, impliquées dans la défense des végétaux (**Cheriet, 2011**).

Il a été estimé que le règne végétal contient environ 200 000 métabolites (**Fernie, 2007**). Certains métabolites secondaires peuvent être retrouvés dans tous les organes végétaux (tiges, feuilles, racines, fleurs), cependant d'autres seront au contraire localisés préférentiellement dans une seule catégorie d'organes. Ces métabolites comme tous les autres composés subissent à l'intérieur de la plante, des phénomènes de transport, de stockage, et aussi de dégradation ou catabolisme « turn-over », ce qui explique parfois leur disparition. Ces conditions ne sont pas communes pour toutes les plantes mais elles sont spécifiques pour chaque espèce végétale (**Guignard et al., 1985**).

### **II.2. Classes des métabolites secondaires**

Plusieurs molécules peuvent être rapportés aux métabolites secondaires, selon leur origine biosynthétique, on peut les classer en trois majeurs groupes : terpénoïdes, alcaloïdes et composés phénoliques (**Croteau et al., 2000**). Ces derniers, sujet de ce mémoire, sont détaillés ci-dessous.

### **II.3. Les composés phénoliques**

Les polyphénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate.

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou non d'autres fonctions (OH alcoolique, carboxyle...) (**Cheriet, 2011**). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tannins condensés) (**Macheix et al., 2005**). Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Cheriet, 2011 ; Beta et al., 2005 in Mohammedi, 2006**).

Certains composés phénoliques sont largement distribués dans tous les organes végétaux : feuilles, racines, écorces et fleurs, comme l'acide chlorogénique, mais la distribution de plusieurs autres est restreinte à certains genres, ce qui constitue un bon outil pour les études chimio-taxonomiques des végétaux (**Boudet, 2007**).

#### ➤ **Rôle physiologique**

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), 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**).

Ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales. Chez l'homme, ces molécules jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits, légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (**Macheix et al., 2005**).

#### ➤ **Les différentes formes chimiques**

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau II) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques...) (**Jean-Jacques et al., 2005**).

### II.3.1. Les formes les plus simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches. Sauf exceptions, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

#### II.3.1.1. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1 (fig.1). Ils sont particulièrement bien représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal, en particulier de lignine et de certains tannins. Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides, à l'exemple de l'acide salicylique dont le glucoside ou les esters méthylique ou glucosylé représentent vraisemblablement des formes de stockage ou de circulation dans la plante (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

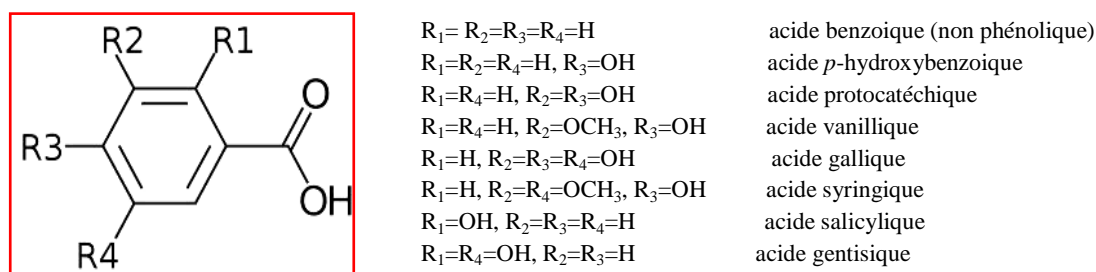


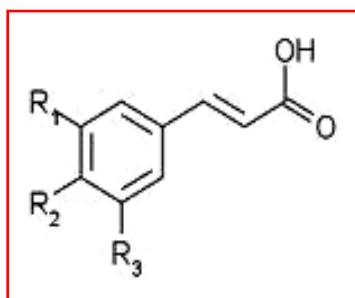
Figure 1 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

#### II.3.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides férulique ou sinapique) sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (*cis* ou *Z* et *trans* ou *E*) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes.

Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont : l'acide *p*-coumarique (et ses isomères, les acides *o*- et *m*-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-

hydroxylé, et enfin l'acide sinapique (fig.2). L'ensemble est souvent rapporté sous le vocable commun de phénylpropanoïdes (**Jean-Jacques et al., 2005**).

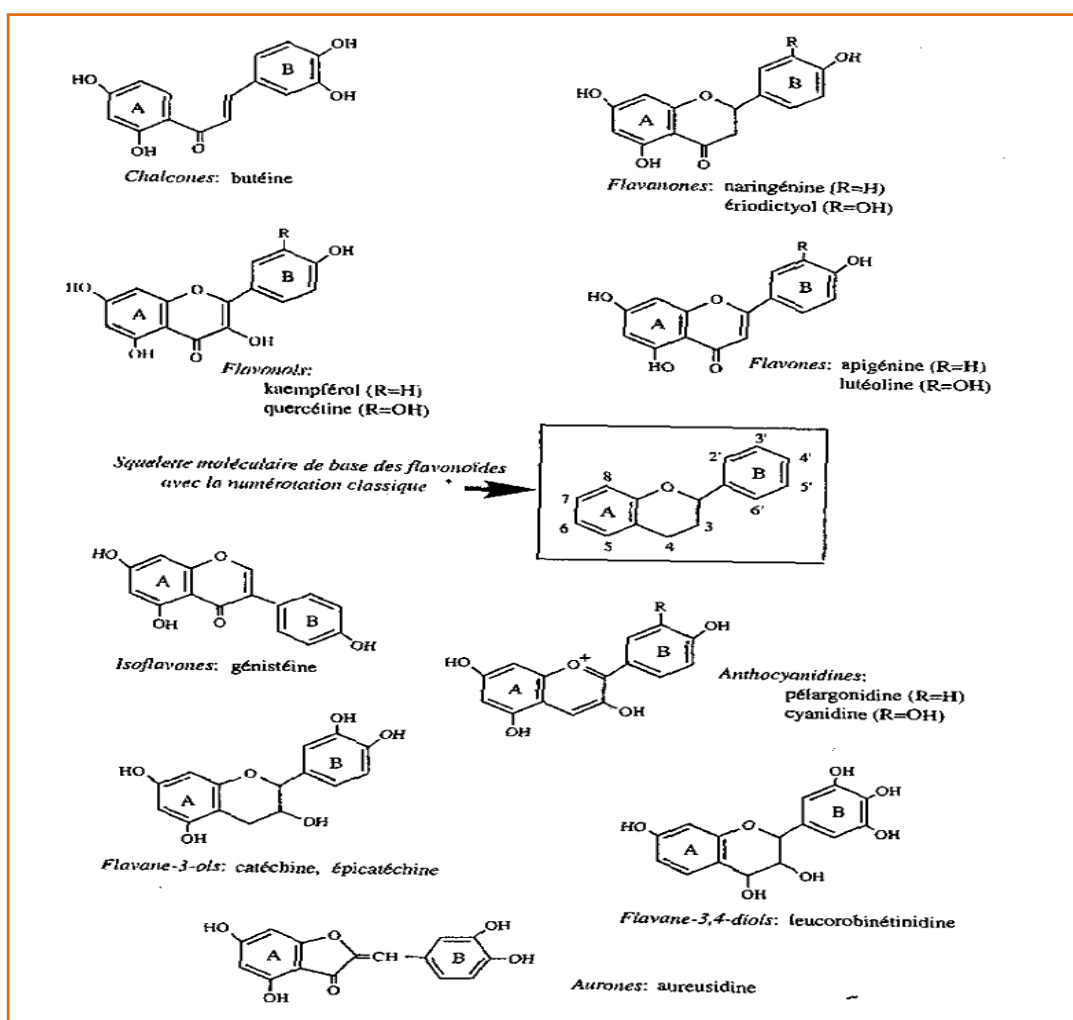


$R_1=R_2=R_3=H$	acide cinnamique (non phénolique)
$R_1=R_3=H, R_2=OH$	acide <i>p</i> -coumarique
$R_1=R_2=OH, R_3=H$	acide caféique
$R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$	acide férulique
$R_1=R_3=OCH_3, R_2=OH$	acide sinapique

**Figure 2** : Principaux acides hydroxycinnamiques (« phénylpropanoïdes ») (**Jean-Jacques et al., 2005**).

### II.3.1.3. Les flavonoïdes

L'ensemble des flavonoïdes, de structure générale en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et flavonols, de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine. C'est d'abord la structure de l'hétérocycle centrale et son degré d'oxydation (fig.3) qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (**Jean-Jacques et al., 2005**).



**Figure 3 :** les principales classes de flavonoïdes. Un (ou deux) exemple(s) précis a été donné dans chacun des cas (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

#### II.3.1.4. Autres exemples

De très nombreux autres phénols simples ou des formes qui y sont directement apparentées peuvent être présents chez les végétaux (fig.4). Nous citerons par exemple certains phénols très simples comme le catéchol, le résorcinol ou le phloroglucinol, des aldéhydes comme la vanilline, des lignanes comme le pinorésinol, correspondant à la dimérisation de deux alcools en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, l'oleuropéine responsable de l'amertume de l'olive...Par ailleurs, d'autres constituants végétaux, bien que rattachés à des groupes chimiques différents en raison de leur origine biosynthétique ou de leurs propriétés les plus caractéristiques, ont également un caractère phénolique. C'est le cas de certains acides aminés dont en premier lieu la tyrosine, Les quinones peuvent également être rattachées aux composés phénoliques simples dont elles dérivent par des processus incluant des oxydations (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

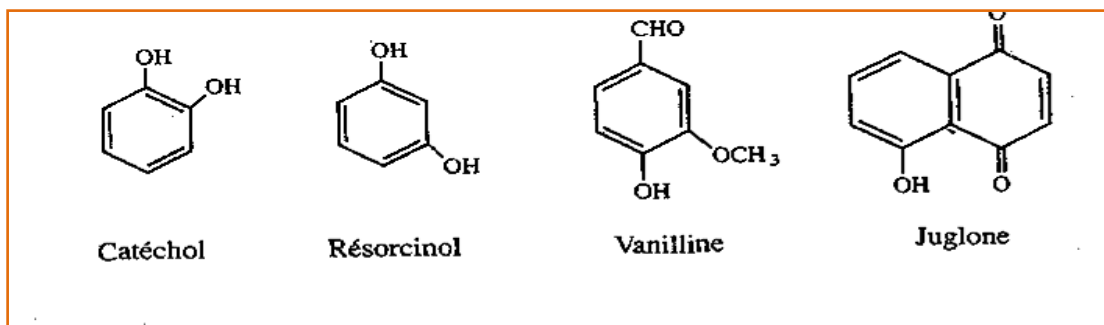


Figure 4 : Quelques exemples de composés phénoliques particuliers (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

### II.3.2. Les formes condensées

Ces composés résultent généralement de la condensation de certaines des formes simples précédemment évoquées. Selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation, on obtient des composés plus ou moins complexes pouvant encore présenter une hydrosolubilité suffisante pour être présents dans la vacuole (tannins, certains produits de brunissement) ou au contraire acquérir un caractère lipophile marqué et s'accumuler alors dans les structures pariétales (lignine, formes présentes dans la cutine et la subérine...).

Dans tous les cas, les formes condensées sont particulièrement difficiles à étudier et, dans la plupart des cas, on est obligé de les dégrader, chimiquement ou enzymatiquement, avant de pouvoir les analyser.

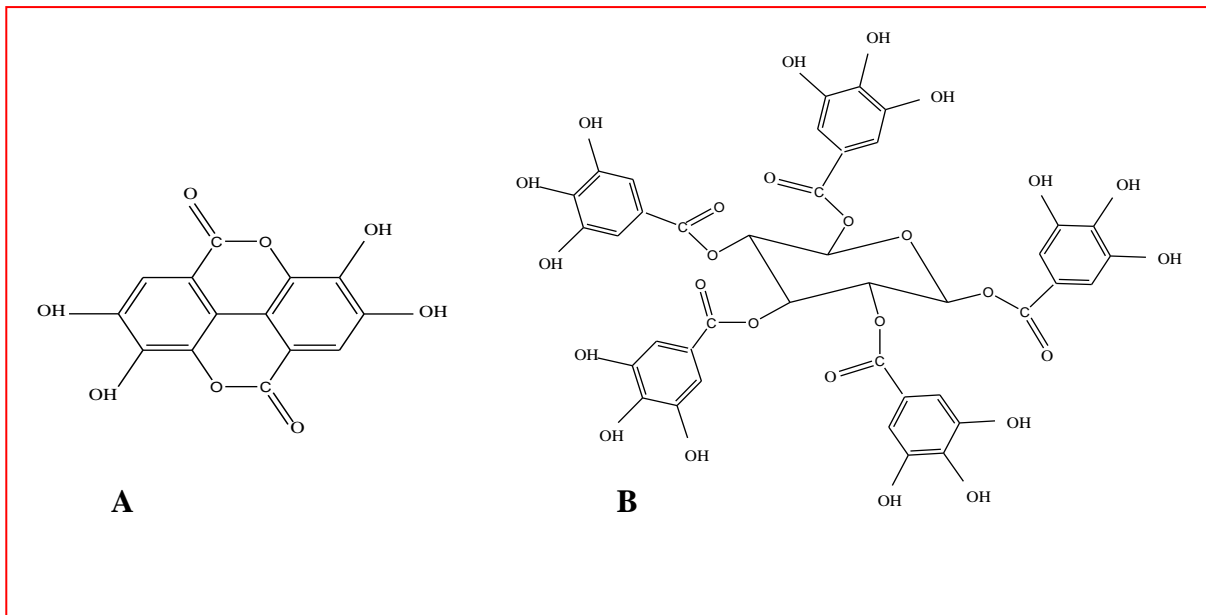
Nous distinguerons deux grands groupes de formes phénoliques condensées : les tannins et les lignines (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

#### II.3.2.1. Les tannins

Utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tannins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, thé, bière...). En première approximation, on peut considérer que les tannins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter. Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins condensés (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

➤ Les tannins hydrolysables

Ils sont abondants chez les Dicotyledones et certains arbres en sont des sources industrielles : tannin de chine ou de turquie extraits respectivement d'un arbuste du genre *Rhus* ou de *Quercus tinctoria*. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme la tannins de chine, quelque fois appelé « acide tannique ») soit un diamètre de ce même acide, l'acide ellagique cas des tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple la castalagine chez le châtaignier ou le chêne (Jean-Jacques *et al.*, 2005).



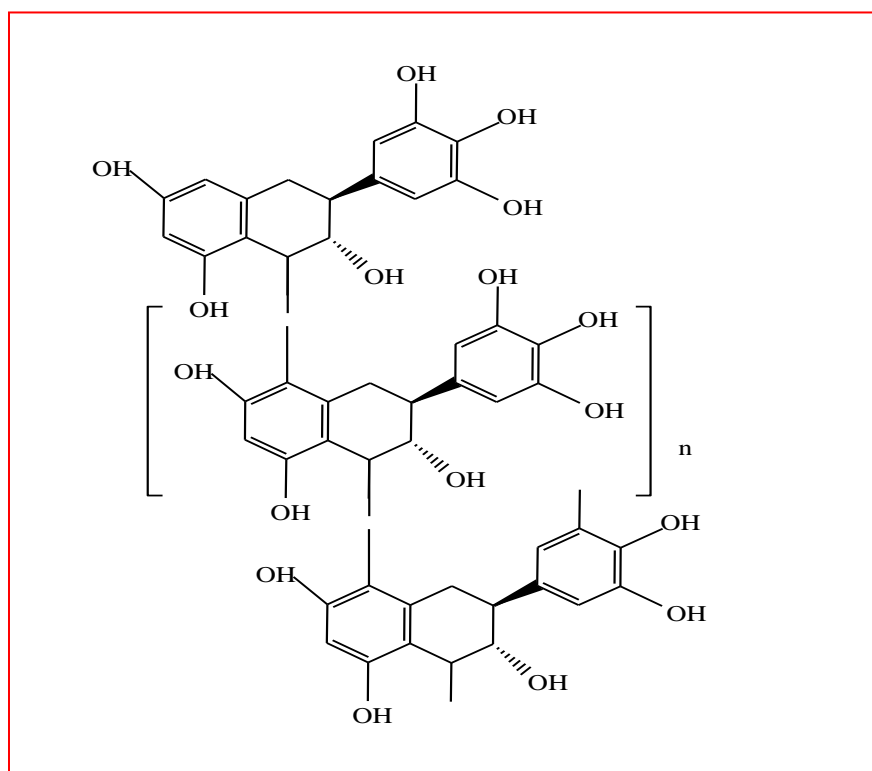
**Figure 5 :** unités élémentaires des tannins hydrolysables. A) Acide éllagique. B) penta-galloylglucos (acide tannique) (Reed, 1995; Macheix *et al.*, 2005).

➤ Les tannins condensés

Les tannins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères (fig.6). Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et, pour cette raison, les formes dimères et

oligomères sont dénommées «pro anthocyanidines ». Les pro-anthocyanidines dimères présentent déjà une affinité pour les protéines et des propriétés tannantes mais ces deux paramètres augmentent avec la taille moléculaire des polymères qui sont formés par adjonction de nouveaux monomères aux dimères initiaux. L'enchaînement des différentes unités constitutives se fait soit de manière linéaire grâce à des liaisons C-C soit par des ramifications grâce à des liaisons C-O-C conduisant à des structures de plus en plus complexes qui restent cependant solubles dans l'eau des vacuoles.

Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre...) (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).



**Figure 6 :** Exemple de structure d'un tannin condensé (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

### II.3.2.2. Les lignines

Bien qu'il soit difficile de considérer les lignines comme un « métabolites secondaires » compte tenu de leur importance quantitative et biologique et de leur signification dans l'évolution des plantes terrestres, elles doivent être logiquement rattachées aux composés phénoliques en raison de leur structure chimique et des voies de biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes.

A l'échelle du globe, la lignine représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux, la deuxième après la cellulose. Selon les espèces, elle constitue 15 à 35% du bois des Angiospermes et des Gymnospermes.

Les lignines résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois molécules phénoliques de base dénommées monolignols et qui sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique, Correspondant respectivement aux acides *p*-coumarique, férulique et sinapique (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

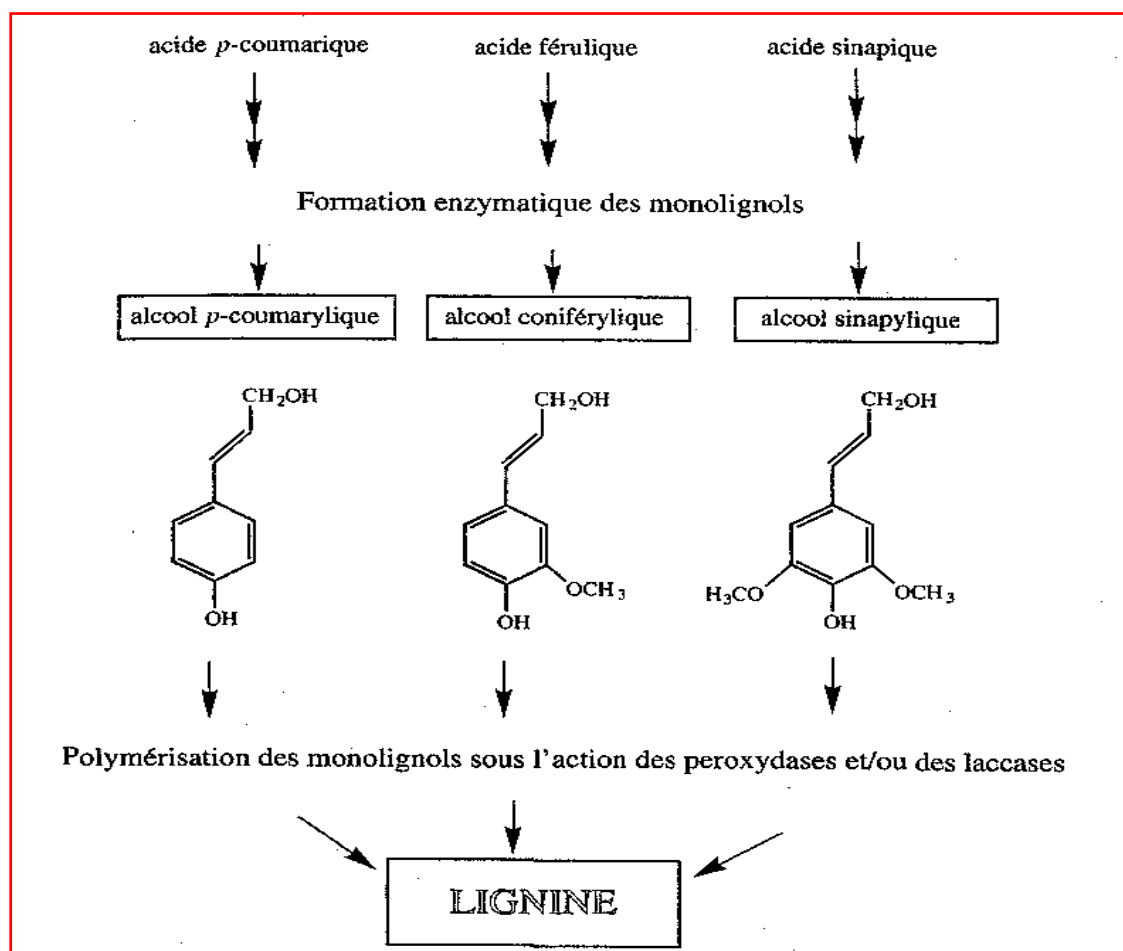


Figure 7 : les monolignols dérivés des acides hydroxycinnamiques et leur intégration dans la lignine (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

## II.4. Exemples d'activités biologiques des composés phénoliques

### II.4.1. L'activité anti-inflammatoire

Cette activité concerne de nombreux composés phénoliques et en premier lieu l'acide salicylique sous sa forme acétylée (acide acétylsalicylique) commercialisée sous le nom d'aspirine. C'est initialement à partir de l'écorce de saules qu'un pharmacien français a isolé

au XIX<sup>e</sup> siècle un principe actif analgésique et antipyrétique qu'il dénomme salicyline, composé qui correspond en fait au dérivé glucosylé de l'acide salicylique. Ce dernier est lui-même actif mais n'est pas un remède idéal car il a des effets secondaires indésirables (saveur désagréable, irritation de la bouche et de l'estomac). Par contre, c'est sous sa forme acétylée qu'il est le plus efficace et le mieux supporté par l'organisme humain.

L'aspirine a de multiples effets dont le principal est d'inhiber la synthèse d'un groupe de composés en C<sub>20</sub> dérivés de l'acide arachidonique (prostaglandines, thromboxanes...) qui participent à la réponse inflammatoire (arthrite rhumatoïde, psoriasis, inflammatoïdes des yeux), à la production de douleur et de fièvre, à la régulation de pression artérielle, à la stimulation de l'agrégation des plaquettes donc de la coagulation du sang, etc. l'aspirine va donc limiter toutes les conséquences négatives liées à la formation pathologique de ces substances. Le mécanisme d'action est dans ce cas bien connu : il correspond à celui d'un principe anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe une cyclooxygénase, première enzyme de la voie de biosynthèse des prostaglandines (et des molécules voisines) par oxydation de l'acide arachidonique (**Jean-Jacques et al., 2005**).

En effet, bien d'autres composés phénoliques (esters caféiques, acide rosmarinique, différents tannins et de nombreux flavonoïdes, etc.), présentent une activité anti-inflammatoire, par exemple les flavonoïdes à caractère liposoluble présents à la surface des feuilles de la matricaire (*Tanacetum parthenium* L.). L'action anti-inflammatoire de certains anthocyanes a également été rapportée et, par exemple, la cyanidine extraite des cerises s'est révélée 10 à 20 fois plus active que l'aspirine pour réguler la synthèse des prostaglandines. Dans certains cas également, des traitements combinés entre quercétine et curcumine ont un effet favorable sur la cicatrisation qui suit les transplantations rénales (**Jean-Jacques et al., 2005**).

Les flavonoïdes des agrumes (O- et C-glycosides de flavones et flavanones méthoxylées), pour leurs effets sur certains troubles circulatoires, interviennent par leur action anti-inflammatoire. En effet, l'insuffisance veineuse chronique est accompagnée d'une réponse inflammatoire qui peut être atténuée par l'apport de ces flavonoïdes. Parmi eux, l'héspéridine est l'un des sous-produits majeurs de l'industrie de transformation des agrumes et peut être obtenus à faible coût. Dans ce cas encore, l'effet anti-inflammatoire des flavonoïdes est d'abord dû à l'inhibition d'enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines. Mais d'autres actions renforcent cet effet, en particulier l'inhibition des phosphodiésterases et des protéines kinases. L'effet anti-inflammatoire de l'héspéridine et de la diosmine est également retrouvé au niveau de la prévention des inflammations du colon où

les propriétés antioxydantes de ces composés semblent jouer un rôle important. Le cas de la capsaïcine, principe irritant des poivrons utilisé comme analgésique local, ne sera pas développé ici dans la mesure où ce composé, bien qu'en partie phénolique, est généralement rattaché au groupe des alcaloïdes (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

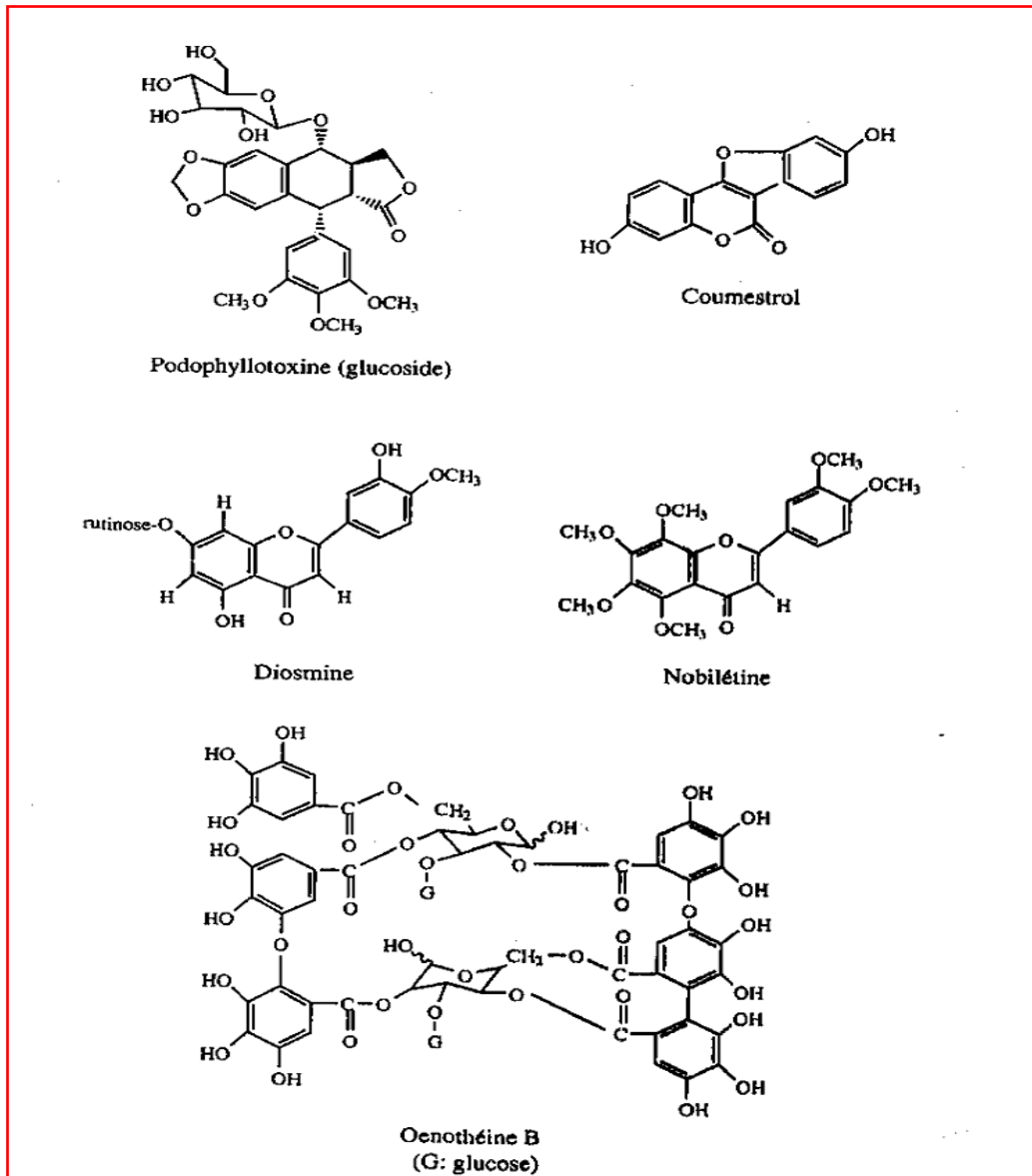


Figure 8 : Quelques exemples de composés phénoliques d'intérêt thérapeutique (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

#### II.4.2. Activité oestrogénique

L'activité oestrogénique des extraits de certaines plantes a été mise en évidence dès le début du XX<sup>e</sup> siècle et cette activité, aujourd'hui prouvée chez plusieurs certaines d'espèces végétales, est utilisée pour lutter contre les troubles associés à la ménopause, en particulier l'ostéoporose, contre le développement des cancers du sein et de la prostate et contre les

accidents cardiovasculaires. Les phytoestrogènes sont des molécules qui miment les actions du  $\beta$ -estradiol et autres hormones sexuelles femelles dérivées du cholestérol. Selon leur concentration, elles peuvent se comporter soit comme des œstrogènes de faible activité soit comme des anti-œstrogènes. Cette concentration varie dans la plante avec le stade de développement et les conditions de culture, ainsi qu'à la suite de traitements d'extraction des principes actifs.

De nature non stéroïdique, les phytoestrogènes appartiennent principalement à plusieurs classes des composés phénoliques dont les trois principales sont les isoflavones, les coumestanes et les lignanes. Ces composés d'origine végétale sont apportés en routine avec certains aliments mais également sous forme de compléments diététiques ou de médicaments issus de plantes qui en sont riches. Ils sont en partie métabolisés par les bactéries symbiotiques du tube digestif avant d'être retrouvés dans le plasma sanguin et ultérieurement dans les urines (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

#### Les isoflavones

Des études plus précises ont montré que ce sont les isoflavones, en particulier la daidzéine, qui provoquent une diminution de l'ensemble des troubles liés à la ménopause, sans entraîner d'effets secondaires importants. Ce sont donc essentiellement les femmes en âge d'être ménopausées qui peuvent être traitées aux phytoestrogènes lorsqu'elles veulent éviter la thérapie classique aux œstrogènes.

Les phytoestrogènes du soja peuvent également intervenir dans la protection des maladies cardiovasculaires par leur activité antioxydante, par leur action sur la tyrosine kinases et par diminution du taux de lipides sanguins. La génistéine et les concentrés d'isoflavones diminuent ainsi le taux de cholestérol du sérum sanguin et participent à la suppression des processus cellulaires conduisant à l'athérosclérose (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

#### **II.4.3. L'action cytotoxique et antitumorale**

De très nombreux bio-essais sur les propriétés cytotoxiques et antitumorales des composés naturels ont été conduits à partir d'extraits végétaux. Dans tout les cas, les résultats restent variables en fonction des concentrations testées et de l'origine des lignées cellulaires sur lesquelles sont réalisés les tests. Ces essais ont néanmoins permis d'isoler et d'identifier de nombreuses molécules phénoliques cytotoxiques et anticarcinogènes appartenant à plusieurs classes : lignanes, catéchines, chalcones, flavones, flavonols, flavanones,  $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), acides hydroxycinnamiques, curcumine, podophyllotoxine et des

flavones polyméthoxylées des *Citrus*, les perturbations du fonctionnement mitochondrial par les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (inhibition de la chaîne de transport des électrons et stimulation de l'apoptose mitochondriale) ou un blocage de formation des nitrosamines cancérigènes.

Les flavonoïdes des *Citrus* sont généralement actifs mais leur efficacité dépend d'une part de leur glycosylation éventuelle et d'autre part de leur degré de métoxylation. En effet, bien que les principaux glycosides de flavonoïdes de l'orange (hespéridine et diosmine) montrent une activité anticarcinogène *in vivo*, celle-ci reste relativement faible lorsqu'elle est testée *in vitro* sur cellules cancéreuses. Il semble que la glycosylation bloque l'entrée de ces molécules dans les cellules et inhibe leur liaison avec les récepteurs impliqués dans l'expression des gènes. Au contraire, les flavones polyméthoxylées non glycosylées des agrumes (tangéretine, nobilétine, etc.) ainsi que des molécules voisines obtenues par des modifications chimiques simples, montrent une très forte capacité à bloquer la prolifération des cellules comme cela a été testé sur différentes lignées de cellules humaines issues de cancers du sein, de la prostate, du colon, du poumon et de la peau. Ces flavones pourraient intervenir en bloquant le cycle cellulaire par suppression de la synthèse des kinases impliquées dans la transition entre les phases G<sub>2</sub> et M de ce cycle. La forte activité antimittotique des flavones polyméthoxylées des agrumes semble donc prometteuse en vue de leur utilisation comme agents anticancéreux chez l'homme.

Parmi les tannins hydrolysables du groupe des ellagitannins, certains dimères ou trimères cycliques, en particulier l'oenothéine, présentent une activité antitumorale particulièrement intéressante. Ces molécules sont naturellement présentes chez différentes espèces de plantes (eucalyptus, épilobe, etc.) et peuvent être produites grâce à la biotechnologie végétale. Si l'efficacité de l'oenothéine B sur le blocage du développement de différentes tumeurs humaines est nette, le mode d'action précis a fait l'objet de différentes interprétations, par exemple la stimulation des défenses immunitaires par libération d'interleukine et activation des macrophages, l'inhibition d'enzymes virales ou encore l'induction des phénomènes d'apoptose (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

## **II.4.4. Lutte contre le stress oxydatif**

### **II.4.4.1. Généralité sur le stress oxydatif**

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd *et al.*, 2003**). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (**Morel et Barouki, 1999**).

Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux libres, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant » (**Favier, 2003**).

➤ *Les radicaux libres*

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Vansant, 2004**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé *espèces réactives de l'oxygène* (**Favier, 2003**).

L'appellation "dérivés réactifs de l'oxygène" n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peroxyde d'azote ( $ONOO^-$ ) (**Novelli, 1997**).

❖ *Principaux radicaux libres* (voir Annexe II).

❖ *Origine des radicaux libres*

Ils sont produits par divers mécanismes physiologique afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaires programmée ou apoptose (**Favier, 2003**).

Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale.

L'inflammation est par ailleurs une source importante des radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées. Le monoxyde d'azote, est produit par les systèmes enzymatiques que sont les différentes NO synthases, à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages (**Favier, 2003**).

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres (**Favier, 2003**).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux (**Hadi, 2004**). L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (**Hosein et Lytle, 2001**).

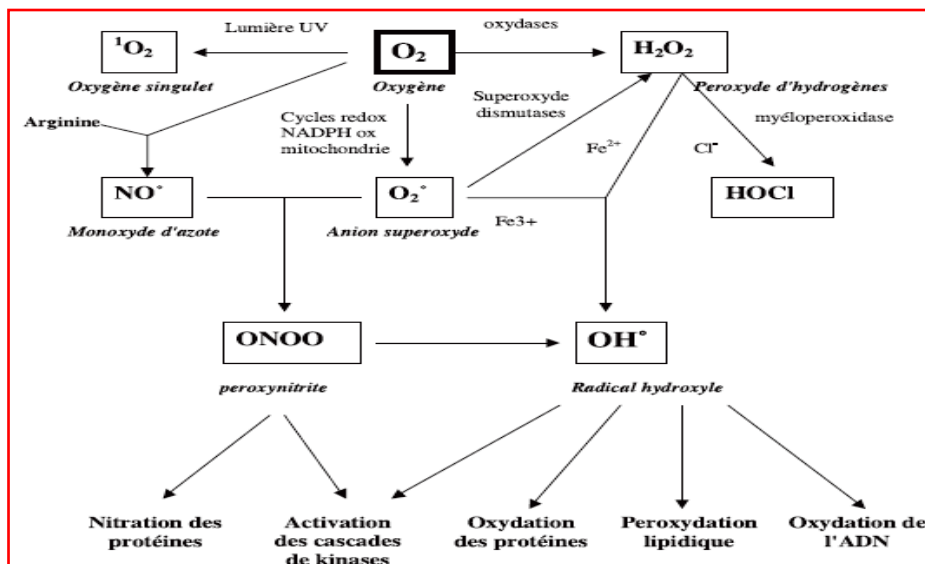


Figure 9 : origine des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

#### II.4.4.2. Les conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides.

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, réaction appelée peroxydation lipidique. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Hadi, 2004). Ils inhibent la sécrétion d'insuline (Krippeit-Drews *et al.*, 1994), modifient les structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines (Pincemail *et al.*, 1999).

Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et OH, qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde.

Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (Favier, 2003).

Le stress oxydant, principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire,

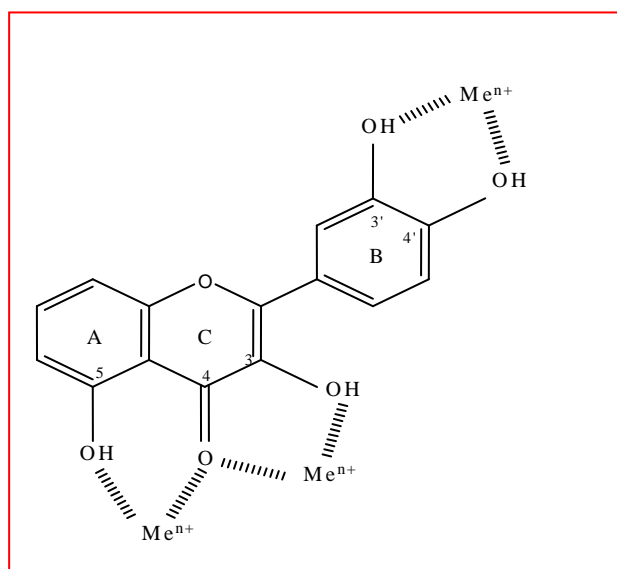
vieillesse accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**), maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinale, ulcères (**Atawodi, 2005**), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (**Georgetti et al., 2003**).

#### II.4.4.3. Activité antioxydante des composés phénoliques

Grâce à leur diversité structurale, les composés phénoliques sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres et l'induction de la synthèse des enzymes antioxydantes (**Cotelle et al., 1996; Bors et al., 1997 ; Gramza et Korczak, 2005; Siddhuraju, 2007**).

##### ➤ Chélation des métaux

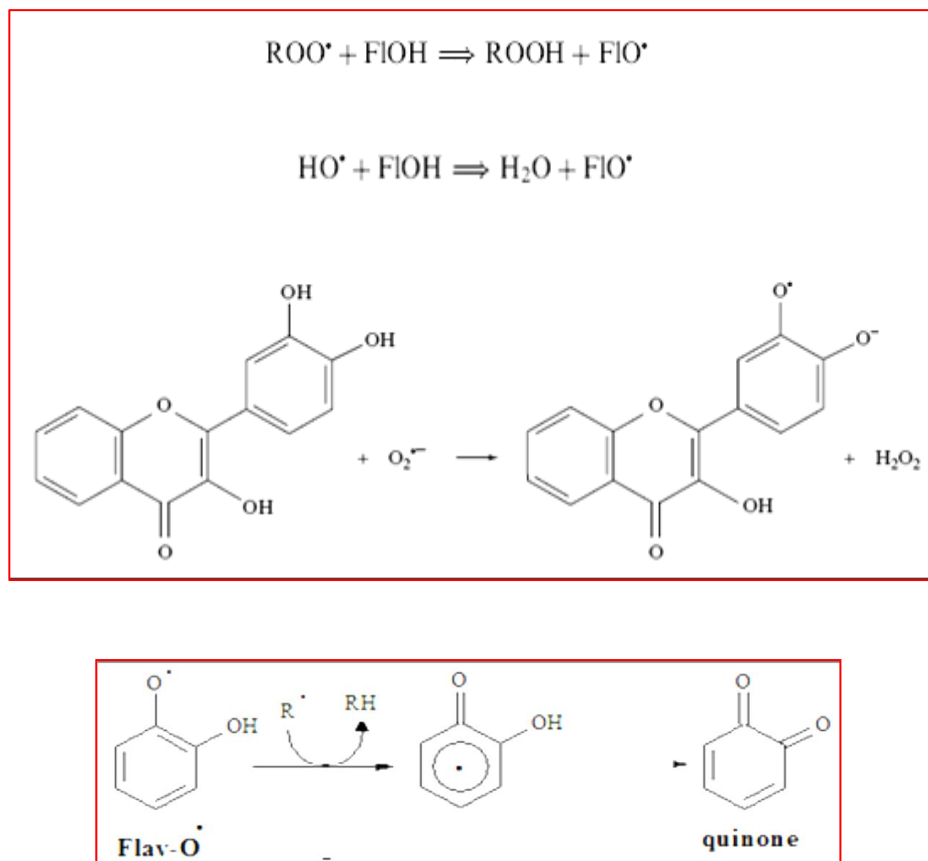
Les métaux de transition  $Fe^{++}$  et  $Cu^{++}$  qui sont essentiels pour le déroulement de différentes fonctions physiologiques peuvent être aussi une source du radical  $OH^\circ$  lors de la réaction de Fenton. Cette réaction peut être empêchée par les composés phénoliques notamment les flavonoïdes en chélatant ces métaux grâce à leurs fonctions catéchols 3'-hydroxyl, 4'-hydroxyl sur le cycle B, les fonctions 3-hydroxy, 4-oxo du l'hétérocycle C et les fonctions 4-oxo, 5-hydroxy de l'hétérocycle C et le cycle B, respectivement (fig.10) (**Bors et al. 1997; Pietta, 2000 ; Heim et al., 2002**).



**Figure 10** : Sites de chélation des métaux par les flavonoïdes (**Pietta, 2000**).

➤ Piégeage direct de radicaux libres

Les polyphénols agissent aussi comme des antioxydants par neutralisation directe des radicaux libres. Les flavonoïdes en est une classe bien adaptée pour cette propriété. En effet, ces molécules possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. À cause de leur faible potentiel redox (**Jovanovic et al., 1994**), les flavonoïdes (Flav-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R•) comme le superoxyde, le radical peroxy, le radical alkoxy et le OH• par transfert d'hydrogène. Le radical aroxyde résultant (Fl-O•) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable.



**Figure 11:** mécanisme moléculaire de l'effet antiradicalaire des flavonoïdes (**Pietta, 2000**).

En outre, le radical aroxyde peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction qui peut prendre place en présence de taux élevés de métaux de transition, est responsable de l'effet prooxydant indésirable des flavonoïdes, (**McCord, 1995**). La capacité des flavonoïdes d'agir comme antioxydants dépend donc, non seulement

du potentiel redox du couple Flav- O•/Flav-OH, mais aussi de la réactivité du radical aroxyde. (Rice-Evans, 2001).

➤ **Inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres**

L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques est une autre stratégie de l'effet antioxydant des composés phénoliques. Il a été rapporté par plusieurs études que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet (Nagao *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2002). La quercétine, par exemple, est l'un des flavonoïdes les plus connus pour son activité inhibitrice sur la xanthine oxydase (Middleton *et al.*, 2000).

### III. Matériels et méthodes

#### III.1. Les plantes médicinales sélectionnées

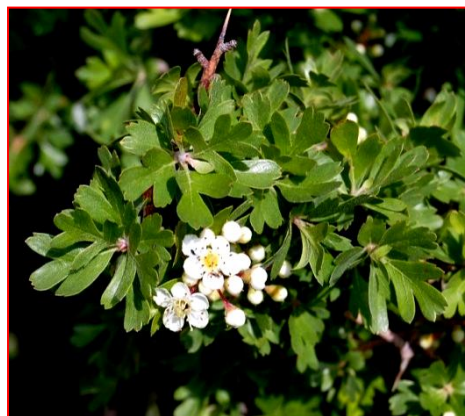
##### III.1.1. *Crataegus azarolus*

###### ➤ Noms habituels

**Arabe :** Zaaroura, Zaârour ou Zinebit.

**Berbère :** Tazaraourt, Tafirer ou Tefifiha.

**Famille :** Rosacées. (Aït Youssef, 2006)



Source: [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

**Figure 12:** photo de *Crataegus azarolus*.

###### ➤ Propriété et usage

La feuille de *Crataegus azarolus* L. est employée en usage interne, sous forme d'un décocté : remède recommandé aux diabétiques, à raison d'un verre tous les matins à jeun. La fleur est employée sous forme de décocté dans le traitement de l'angine ; elle est réputé utile pour supprimer les douleurs post-partum. Le fruit est employé dans l'alimentation humaine : quoique de peu de saveur et manquant de suc, le fruit était récolté et consommé crus, surtout en année disette (Aït Youssef, 2006).

##### III.1.2. *Rhamnus alaternus*

###### ➤ Noms habituels

**Arabe:** Qaced, Aoud el kheir, ûd el hîr.

**Berbère :** Mlilès, mlilez, ajrourj.

**Famille :** Rhamnacées. (Aït Youssef, 2006).



Source: [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

**Figure 13 :** photo de *Rhamnus alaternus*.

###### ➤ Propriété et usage

Les tiges et les feuilles étaient utilisées contre la jaunisse et les troubles hépatiques provoqués par le paludisme (Aït Youssef, 2006). Les fruits de nerprun alterne renferme un principe actif la rhamnine, donne des vertus purgatives elles constituent en effet, un purgatif

très énergique et d'un emploi sur. Mais les doses doivent être déterminées avec prudence, 2g de fruits écrasés dans un quart d'eau, en décoction à prendre le matin à jeun pour obtenir une purgation douce. L'écorce de la racine ou du tronc de nerprun sont utilisé avantageusement contre la jaunisse. On prépare à cet effet 10g d'écorce de racine ou tronc dans demi-litre d'eau l'laisser bouillir 10 min, filtrer, prendre 2 tasses par jour (**Beloued, 2003**).

### III.1.3. *Cistus albidus*

➤ **Noms habituels**

**Arabe** : ataï ou touzzalt.

**Berbère** : tuzzalt ou tuzzala.

**Famille** : cistacées (**Aït Youssef, 2006**).



Source: [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

**Figure 14** : photo de *Cistus albidus*.

➤ **Propriété et usage**

Les feuilles de *Cistus albidus* L. Étaient employées en usage interne sous forme d'infusions.

Les fruits de *Cistus albidus* L. Sont employés en usage externe, mélangés à des fruits de l'espèce *Juniperus Phoenica* L, Pour la confection du fard à tatouages dénommé harkûs. (**Aït Youssef, 2006**).

### III.1.4. *Retama raetam*

➤ **Noms habituels**

**Arabe** : R'tam.

**Berbère** : telit, telggit.

**Famille** : Fabacées (**Benhouhou**).

Source: [http://www.henriette\\_sherbal.com](http://www.henriette_sherbal.com).

**Figure 15** : photo de *Retama raetam*

➤ **Propriété et usage**

Il est utilisé comme un abortif, vermifuge, antiseptique, purgatif, sédatif, et vulnéraire. les tiges et les feuilles sont broyées et mélangé avec du miel et administré par voie orale comme émétique. Une décoction de feuilles est donnée comme purgatif et

anthelminthique. Les fleurs sont utilisées pour guérir les blessures et la circoncision comme antiseptique pour les plaies, une éruption cutanée et prurit. Les racines sont utilisées dans la fumigation comme un abortif. De même, une infusion des feuilles et fleurs peuvent aider à produire un avortement (**Benhouhou**).

### **III.2. Récolte et séchage**

La récolte des plantes à été faite dans le nord, précisément de la région de Bejaïa, en mois mars de l'année 2012. Après leur identification par des spécialistes en botanique au niveau de parc national de Gouraia, les différentes parties des plantes sont séchées à l'ombre sous la température ambiante.

### **III.3. Broyage et extraction**

Après le séchage, les feuilles des plantes ont été réduites en poudre fine suite au broyage et au tamisage successifs. La poudre obtenue de chaque plante est macérée dans l'éthanol (95%) à raison de 4 ml pour 1g de la poudre, pendant 12 heures sous agitation continue à l'obscurité et à la température ambiante. Le mélange est ensuite laissé décanté pendant 24 heures, et le surnageant éthanolique est récupéré et laissé évaporer à la température ambiante du laboratoire jusqu'à la stabilité de son poids.

Le taux l'extraction (%) est calculé en appliquant la formule suivante :

$$\% = \{(P_1 - P_0) / E\} \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : poids d'extrait après évaporation (g).

**P<sub>0</sub>** : poids vide du boite de pétri (g).

**E** : poids de la poudre végétale (g).

### **III.4. Dosage des composés phénoliques**

#### **III.4.1. Dosage des phénols totaux**

##### **III.4.1.1. Principe de la méthode**

En pratique, plusieurs méthodes sont appliquées pour estimer la teneur en phénols totaux dans les tissus végétaux, mais aucune n'est apte seule de détecter tous les composés phénoliques présents réellement dans ces tissus. Parmi elles, la méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée depuis environ un siècle pour doser la quantité des phénols dans les plantes, elle est utilisée initialement pour les acides aminés (tyrosine et tryptophane), où le réactif de

Folin-Ciocalteu interagit avec le groupement phénolique hydroxylé de ces acides aminés (Vermerris et Nicholson, 2006).

Le principe est basé sur la réduction du réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune, qui est un mélange de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), par les groupements hydroxyles des polyphénols, en oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui absorbe dans le visible à 740 nm, la réaction s'effectue de préférence dans un milieu basique (Vermerris et Nicholson, 2006). Pour cette méthode spectrophotométrique, il faut établir une courbe d'étalonnage qui relie les absorbances aux différentes concentrations, comme celle de l'acide gallique ou chlorogénique. Les concentrations en composés phénoliques sont alors rapportées en équivalent d'acide gallique ou chlorogénique respectivement (Vermerris et Nicholson, 2006).

Pour estimer la teneur en phénols totaux dans nos extraits, nous avons utilisé cette méthode, suivant le protocole décrit par R.B.Ammar et al (2007), en prenant l'acide gallique comme étalon.

#### **III.4.1.2. Protocole expérimental**

Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique allant de 0,025 à 0,2 mg/ml ont été préparées. Par la suite, un volume de 100  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu (50%) est mélangé avec 100  $\mu$ l de chaque solution préparée, et après environ 5 min, 2 ml de bicarbonates de sodium  $Na_2CO_3$  (à 2%) ont été ajoutés au mélange. Le tout est laissé réagir pendant 30 minutes à l'obscurité. La lecture de la densité optique est effectuée à 720 nm contre un blanc réactif, et les résultats ainsi obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les extraits des plantes ont été traités avec les étapes de protocole suivies lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et les résultats obtenus sont exprimés en mg EAG/g d'extrait sec.

#### **III.4.2. Dosage des flavonoïdes**

##### **III.4.2.1. Principe de la méthode**

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de Rao *et al* (2010). Cette méthode utilise le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) qui interagit spécifiquement avec les flavonoïdes en donnant une couleur jaune foncée. L'intensité de la coloration est évaluée par spectrophotomètre à 510 nm. De même que le dosage des phénols totaux, le dosage des flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la rutine par exemple).

### III.4.2.2. Protocole expérimental

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,2 à 2 mg/ml de solution de la rutine est préparée. Dans un tube à essai, on met un volume de 100µl de la rutine, 300µl d'eau distillé suivie par 30µl NaNO<sub>2</sub> (5%). Après 5 min à la température ambiante, un volume de 30µl d'AlCl<sub>3</sub> à 10% (133mg d'AlCl<sub>3</sub> et 400mg d'acétate de sodium sont dilués dans 100ml d'eau distillée) a été ajouté. Après encore d'autres 5min, la réaction a été traitée par 200µl de 1 Mm de NaOH. En fin, le mélange est dilué par 1 ml d'eau distillé. La lecture est effectuée à 510 nm et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage.

## III.5. Evaluation de l'activité antioxydante

### III.5.1. Test anti-DPPH

#### III.5.1.1. Principe de la méthode

Le DPPH (1,1-diphényle-2-dipicrylhydrazyl), est un radical libre de couleur violette intense, relativement stable et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante de différents composés (Wojdylo *et al.*, 2007 ; Kaur *et al.*, 2008). Ce radical lorsque il est réduit sous l'effet d'un antioxydant se décolore pour donner une couleur jaune. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait, justement, en mesurant la diminution de la coloration violette (Rolland, 2004 ; Kubola et Siriamornpu, 2008 ; Khadri *et al.*, 2009).

DPPH<sub>ox</sub> + Antioxydant red → DPPH red + Antioxydant ox (Rolland, 2004).

#### III.5.1.2. Protocole expérimental

L'activité antioxydante des extraits des plantes est évaluée par la méthode Maisuthisakul et ses collaborateurs (2007), dans laquelle 50µl de la solution méthanolique de DPPH (5mM) est ajouté à 2,45ml d'extrait préparé à différentes concentrations, l'absorbance est mesurée à 517nm après 30mn d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition ou effet scavenger contre le DPPH par les antioxydants présents dans les extraits.

*Effet scavenger contre le radicale DPPH (%) =  $\{(A_T - (A_E - A_B)) / A_T\} \times 100$*

**A<sub>T</sub>** : absorbance de témoin (2,45 ml méthanol + 50,0 µl DPPH).

**A<sub>E</sub>** : absorbance de l'échantillon (2,45 ml extrait + 50,0 µl DPPH).

**A<sub>B</sub>** : absorbance du blanc de l'échantillon (2,45 ml extrait + 50,0 µl méthanol).

### III.5.2. Test anti-ABTS

#### III.5.2.1. Principe de la méthode

D'après Re et ces collaborateurs (1999), le principe de la méthode est basé sur la décoloration de radical libre d'ABTS avec certaines modifications. Brièvement, ce radical monocation a été produit en réagissant la solution d'ABTS (7mM) avec 2,45Mm de persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ). Le mélange a été laissé se tenir pendant 15 h dans l'obscurité à la température ambiante. La solution a été diluée avec l'eau distillée pour obtenir une absorbance de  $0,7 \pm 0,02$  à 734nm.

#### III.5.2.2. Protocole expérimental

Les extraits des plantes ont été dissouts dans l'éthanol pour rapporter des concentrations allant de 10 à 120  $\mu\text{g/ml}$ , 200 $\mu\text{l}$  de la solution des extraits des plantes sont ajoutés à un volume de 1800 $\mu\text{l}$  d'ABTS après 7 min on mesurant l'absorbance à 734nm.

$$\text{Effet scavenger contre le radical ABTS (\%)} = \{(A_T - (A_E - A_B)) / A_T\} \times 100$$

$A_T$  : absorbance de témoin (0,2 ml eau distillé + 1,8ml ABTS).

$A_E$  : absorbance de l'échantillon (0,2 ml extrait + 1,8 ml ABTS).

$A_B$  : absorbance du blanc de l'échantillon (0,2 ml extrait + 1,8  $\mu\text{l}$  éthanol).

### III.5.3. Test anti- $H_2O_2$

#### III.5.3.1. Principe de la méthode

Le principe de la méthode d'évaluation de l'activité anti- $H_2O_2$  est basé sur la capacité des extraits de plantes à détruire cette espèce réactive. Les composés phénoliques doués de cette activité s'avèrent d'une grande importance car le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) constitue une source de toxicité pour les cellules végétales (Sinha et Saxena, 2006), comme elle peut donner naissance à une espèce réactive d'oxygène plus néfaste ; l'anion hydroxyle (OH) (Atmani *et al.*, 2009).

#### III.5.3.2. Protocole expérimental

La capacité des extraits à piéger le peroxyde d'hydrogène est déterminée suivant la méthode rapportée par Ruch, Cheng et Klaunig (1989). Pour sa réalisation, 0,2 ml de la solution des extraits des plantes étudiées sont mélangés avec le volume de 0,6ml de solution tampon phosphaté de pH=7,4 ; après un volume de 1,2 ml d' $H_2O_2$  a été ajouté au mélange,

puis les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex. L'évaluation de cette activité est estimée par la mesure des absorbances à 230 nm en appliquant la formule suivante :

$$(\%) = \{(A_T) - (A_E) / (A_T)\} \times 100$$

**A<sub>T</sub>** : absorbance du témoin.

**A<sub>E</sub>** : absorbance de l'échantillon.

### **III. 5.4. Test du phosphomolybdate**

#### **III.5.4.1. Principe de la méthode**

Ce test est un essai spectrophométrique rapide et directe, qui a été développé pour la détermination quantitative de la capacité antioxydante. Il est basé sur la réduction du Mo (VI) au Mo(V) par l'échantillon développant ainsi un complexe phosphomolybdique vert à pH acide donnant une absorbance caractéristique à 695 nm (**Prieto et al., 1999**).

#### **III.5.4.2. Protocole expérimental**

Selon Prieto et al (1999), dans des tubes à essai, nous avons mélangé 0,1 ml de chaque extrait (0,25mg / ml) avec 1ml de réactif phosphomolybdique (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium), les tubes sont ensuite incubés à 90 ° C pendant 1 heure et 30 minutes. Après refroidissement, la lecture de la densité optique des solutions est mesurée à 695 nm contre un blanc. La capacité antioxydante exprimée en équivalent de l'acide ascorbique (mg / g de l'échantillon).

### **III.6. Outil informatique**

La présentation et le traitement des résultats ont été conçus par l'application du logiciel Sigmaplot. La comparaison des valeurs est réalisée par l'application de la méthode One Way Anova approprié pour plusieurs groupes en appliquant le test Duncan's Method (P est significative à 0, 05). Les IC 50 sont exprimées en utilisant le logiciel Origine 6.0.

## IV. Résultats et discussions

### IV.1. Rendement de l'extraction

Pour qu'une extraction soit optimale et efficace, il est convenu de respecter plusieurs facteurs tels que les propriétés chimiques de soluté (solubilité), le transfert de matière qui dépend de la taille des particules, le type de solvant choisi et de sa viscosité (Mitra, 2003). Les composés phénoliques sont l'un des principes solubles dans les solvants polaires, c'est la raison pour laquelle on a choisi l'éthanol, afin de les extraire avec un rendement de recouvrement maximal (Vermerris et Nicholson, 2006).

Les procédés d'extraction des composés phytochimiques, à partir des plantes médicinales, constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités biologiques.

En outre, la production des métabolites phénoliques varie en fonction des saisons, elle atteint son maximum en été avec une puissante activité antioxydante, tandis qu'en hiver ces deux valeurs diminuent considérablement (Meot-Duros et Magne 2009).

À cet effet les plantes étudiées dans ce travail sont récoltées pendant les périodes présumées être propices pour la synthèse des niveaux élevés de ces métabolites.

Le tableau ci-dessous présente les différents taux d'extraction obtenus dans notre étude.

**Tableau 2** : taux d'extraction des différentes plantes étudiées.

Plantes	Taux d'extraction (%)
<i>C. azarolus</i>	7,81
<i>R. alaternus</i>	8.19
<i>C. albidus</i>	11.71
<i>R. raetam</i>	5.98

(Bounoua et Bouhamida, 2012).

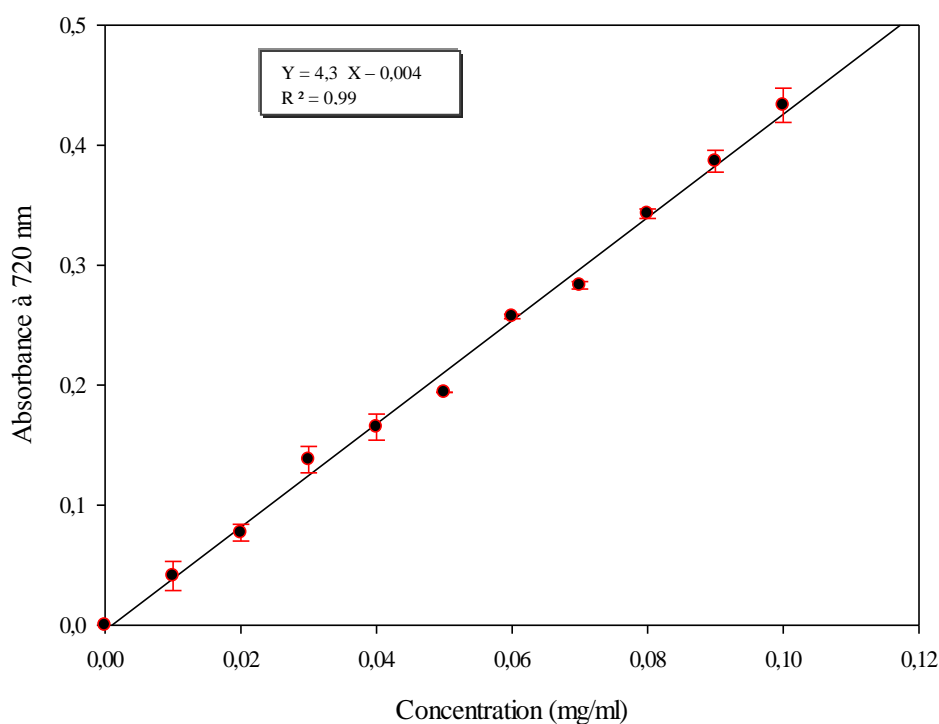
Sachant que la procédure de l'extraction appliquée pour toutes les plantes est effectuée dans les mêmes conditions expérimentales, les résultats obtenus montrent des rendements d'extraction variables. Le taux d'extraction le plus élevé est obtenu au niveau des feuilles de *C. albidus* (11.71%), tandis que le taux le plus faible est celui de *R. raetam* (5.98%). Cette différence pourrait être due principalement à la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans le solvant utilisé ou bien à la taille des particules de la poudre

végétale (Vermeris et Nicholson, 2006). Plus les particules de la poudre végétale sont de taille fine plus le rendement en extraction est meilleur.

## IV.2. Résultats de dosage des composés phénoliques

### IV.2.1. Teneur en phénols totaux

La méthode de dosage des phénols totaux, appliquée dans notre étude, est celle de Folin-Ciocalteu ; une méthode souvent utilisée dans d'autres études. La teneur en phénols totaux pour tous les extraits est exprimée à partir de la courbe d'étalonnage préparée avec l'acide gallique utilisé comme molécule standard (figure 16).



(Bounoua et Bouhamida, 2012)

**Figure 16** : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

Dans le tableau ci-dessous, on a rapporté les résultats de teneurs de l'extrait éthanolique de chaque plante, exprimés en mg EAG/g d'extrait sec.

**Tableau 3** : teneur en phénols totaux des extraits des plantes.

Plantes	Teneur en phénol totaux (mg EAG/g)
<i>C. azarolus</i>	322,00 ± 4,41
<i>R. alaternus</i>	179,76 ± 3,53
<i>C. albidus</i>	384,22 ± 6,93
<i>R. raetam</i>	209,61 ± 2,04

(Bounoua et Bouhamida, 2012).

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

- Les valeurs sont significativement différentes à un seuil de  $P < 0,05$ .

Les valeurs des teneurs en phénols totaux se sont montrées, significativement, différentes à un seuil de probabilité inférieur à 5% ( $P < 0,05$ ).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga, 2001; Pedneault *et al.*, 2001).

D'après ces résultats, les teneurs en phénols totaux montrent que la valeur la plus importante est celle de l'extrait de *C. albidus* (384,22 mg EAG/g) suivie par celles de *C. azarolus*, *R. raetam* et *R. alaternu*, en manifestant respectivement les teneurs suivantes ; citées dans un ordre décroissant : (322,00 mg EAG/g, 209,61 mg EAG/g et 179,76 mg EAG/g).

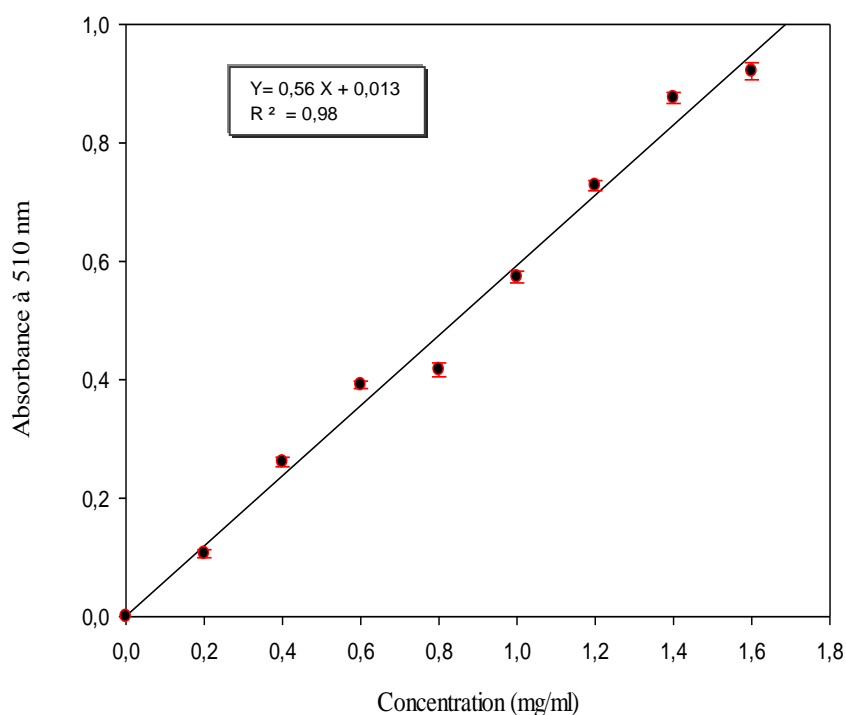
Dans leur étude très récente, Gonçalves et ces collaborateurs (2013) ont indiqué que, parmi les dix plantes qu'ils ont étudiées, l'extrait d'infusion des feuilles de *C. albidus* est l'un des extraits les plus riches en phénols totaux. Ce résultat est en concordance avec le notre en ayant trouvé la teneur la plus importante en ces métabolites ( $p < 0,05$ ) au niveau des feuilles de *C. albidus*.

D'autre part, *C. ladanifer* ; une plante du même genre que *C. albidus*; a été rapportée, par Barrajón-Catalán et al (2010), comme étant riche en composés phénoliques et que ses propriétés biologiques, telles que l'activité antioxydante, antimicrobienne et cytotoxique, seraient associées à son contenu en polyphénols.

D'après l'étude menée par Al-Mustapha et Al-Thunibat (2008), l'extrait aqueux des feuilles de *C. azarolus* est classé en 5<sup>ème</sup> position sur l'ensemble des extraits de 21 plantes médicinales qu'ils ont analysées.

#### IV.2.2. Teneur en flavonoïdes

La méthode de dosage des flavonoïdes est plus spécifique, si on la compare à celle de dosage des phénols totaux, car elle basée sur la formation de complexe chromogène spécifique entre les flavonoïdes et  $\text{AlCl}_3$ . L'application du protocole, a été mise à profit, en premier lieu, pour la préparation de courbe d'étalonnage avec une série de dilution de la rutine (figure 17).



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 17** : courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine pour le dosage des flavonoïdes.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

Les valeurs ci-dessous, exprimées en mg ER/g d'extrait sec, sont le produit de la moyenne de trois testes, elles sont calculées après la conversion des densités optiques manifestées par les extraits des plantes en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $Y=0,56X+0,013$ ). Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau 4.

**Tableau 4:** teneur en flavonoïdes des extraits éthanoliques des plantes

Extrait éthanolique	Teneur en flavonoïdes (mg ER/g)
<i>C. azarolus</i>	157,70 ± 11,44
<i>R. alaternus</i>	189,39 ± 07,62*
<i>C. albidus</i>	188,47 ± 11,52*
<i>R. raetam</i>	62,12 ± 09,19

(Bounoua et Bouhamida, 2012).

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.

- \* : la différence n'est significative à un seuil de P&lt;0,05.

De ces résultats, il est remarquable que les teneurs, en flavonoïdes, de l'extrait éthanolique de feuilles de *C. albidus* et de *R. alaternus* sont proche (P<0,05), en manifestant respectivement des valeurs de 188,47 mg ER/g et 189,39 mg ER/g. Ces valeurs indiquent aussi que ces plantes sont les plus riches en les comparants aux deux autres plantes.

Les feuilles de *C. azarolus*, quant à elles, viennent en deuxième position avec un taux de 157,70 mg ER/g. Cette plante est largement étudiée vu ses effets bénéfiques prouvés en médecine traditionnelle contre les problèmes cardiovasculaires. Cette propriété serait attribuée, pour une grande part, à leur richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes.

En fin, l'extrait de *R. raetam* est marqué par le taux le plus faible (62,12 mg ER/g). Cette dernière est trois fois moins riche en flavonoïdes par rapport à *C. albidus* et *R. alaternus*. Kassem et ces collaborateurs (2000) ont identifié, au niveau des parties aériennes de *R. raetam*, deux nouvelles formes de flavonoïdes ; il s'agit de luteolin 4'-*O*-neohesperidoside et 5,4'-dihydroxy-(3,4-dihydro-3,4-dihydroxy)-2, 2- diméthylpyrano-5,6 :7,8.-flavone.

### IV.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des principes phytochimiques, sont fondées sur la détermination de produits résultants de l'oxydation ou bien en mesurant l'efficacité d'une substance à piéger les radicaux (Marc, 2004).

Il existe différentes méthodes pour déterminer le potentiel antioxydant des extraits des plantes : le test de décolonisation de β- carotène linoléate, le test DPPH, le test FRAP (Ferric Reducing /Antioxidant Power), l'activité scavenger contre le radical hydroxyle et contre le peroxyde d'hydrogène (Kubola et Siriamornpun, 2008), le test TEAC / ABTS + (Trolox

Equivalent Antioxydant Capacity) (Wojdylo *et al.*, 2007), et plus récemment test ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) (Rolland, 2004).

Parmi ces différentes méthodes, le test anti-DPPH, anti-ABTS, anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le pouvoir antioxydant basée sur l'utilisation de phosphomolybdate, sont les méthodes qui ont été prises en considération pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes qui font l'objet du présent travail.

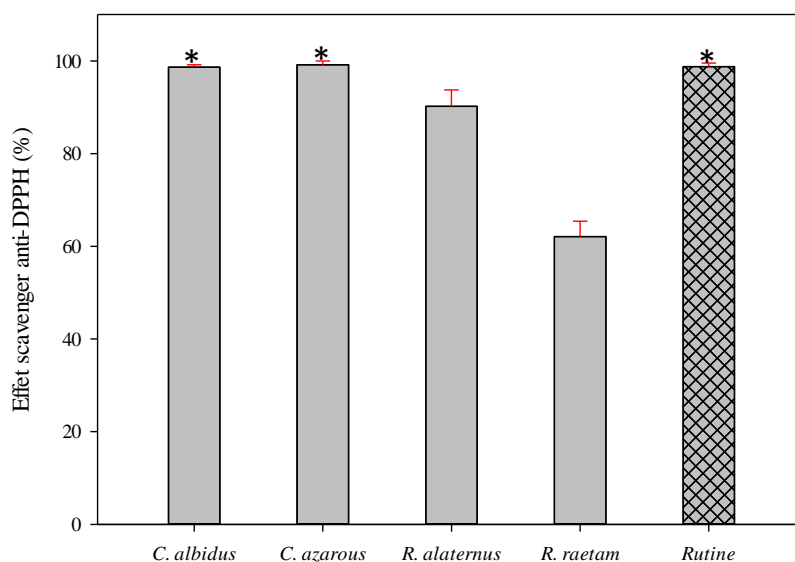
### IV.3.1. Test anti-DPPH

#### IV.3.1.1. Résultats de l'activité anti-DPPH des extraits à 100 µg/ml

À la première lecture des résultats (figure 18), on peut supposer que nos plantes sont de bonne source de molécules à caractère antioxydant. En effet, à la concentration de 100 µg/ml, les extraits de *C. albidus*, *C. azarolus* et *R. alaternus* ont montré des pourcentages assez proches qui dépassent une moyenne de 90%. Sauf à l'exception de l'extrait de *R. raetam* qui présente une activité peu prononcée, l'activité des autres plantes est comparable ( $p < 0,05$ ) à celle de la molécule standard testée en parallèle (rutine : 98.98%).

Ce résultat s'expliquerait non seulement par la richesse des extraits des plantes en polyphénols (quantité), mais aussi par les propriétés structurales de leurs composés phénoliques hydrosolubles qui sont caractérisés par la présence des groupements hydroxyles fortement impliqués dans l'activité anti-radicalaire (Al-Mustapha et Al-Thunibat., 2008 ; Robards *et al.*, 1999).

L'effet puissant, manifesté par l'extrait de feuilles de *C. albidus*, est en accord avec les résultats de Gonçalves et son équipe (2013). Cette plante a été classée deuxième sur les dix plantes analysées dans leur étude, en montrant un pouvoir anti-DPPH de 100.51 (mmol Tolox équivalent/ g d'extrait brut) ; un effet qui vient juste après celui des feuilles de *P. lentiscus*.



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

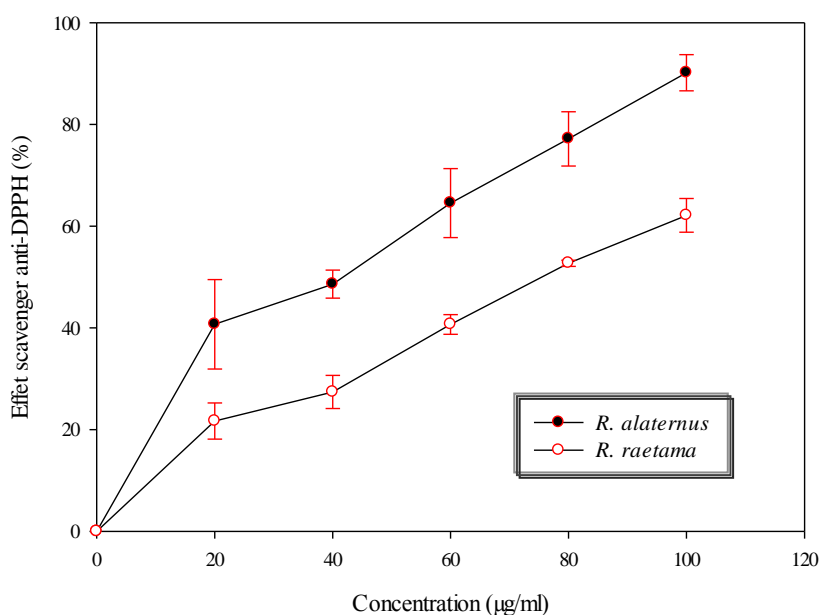
**Figure 18** : activités anti-DPPH des extraits et le standards à 100 µg/ml.

- Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
- \* : la différence n'est significative à un seuil de  $P < 0,05$ .

#### IV.3.1.2. Résultats de l'activité anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits

L'évaluation de l'activité anti-DPPH des extraits des plantes suivant leurs concentrations est menée dans le but de déterminer les concentrations inhibitrices à 50% ( $IC_{50}$  %). Une  $IC_{50}$ , par définition, est la concentration d'une molécule antioxydante, nécessaire pour neutraliser 50% de la molécule radicalaire en question (DPPH, ABTS et autres). Ces concentration sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un pouvoir anti-radicalaire important (Villano *et al.*, 2007 ; Khadri *et al.*, 2009).

La figure N°19 montre que l'effet anti-DPPH des extraits éthanoliques de feuilles de *R. alaternus* et *R. raetam* commence à diminuer à partir de la concentration de 100µ/ml pour atteindre les taux les plus faibles à la concentration de 20 µg/ml.

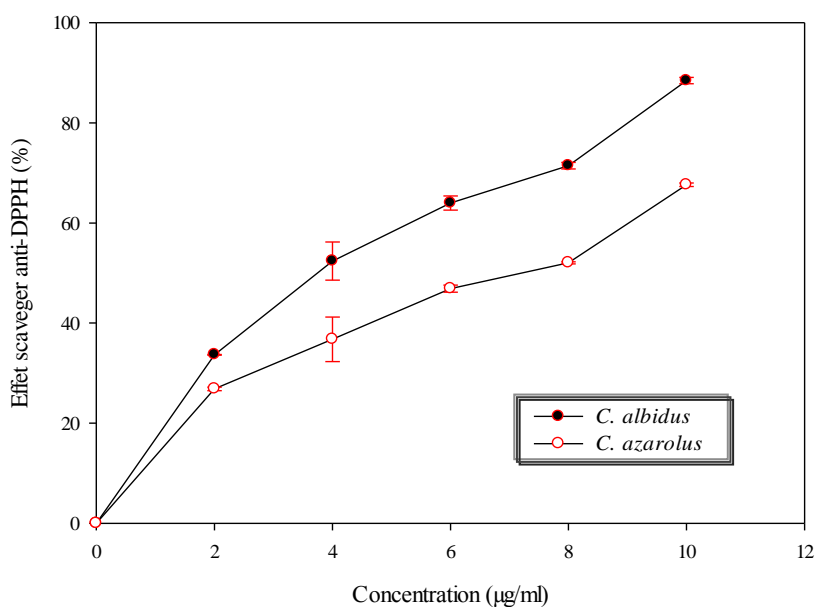


(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 19 :** effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de *R. alaternus* et *R. raetama*.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

Tandis que la figure N°20 montre que l'effet anti-radicalaire des extraits éthanoliques de feuilles *C. albidus* et *C. azarolus* reste important même à la concentration de 10 $\mu\text{g/ml}$  et atteignent les taux les plus faibles à une concentration très basse (2 $\mu\text{g/ml}$ )



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 20 :** effet anti-DPPH en fonction de la concentration des extraits de feuilles de *C. albidus* et *C. azarolus*.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> calculées pour chaque extrait ainsi que celle de la molécule standard, sont regroupées dans le tableau suivant.

**Tableau 5 :** valeurs des IC<sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-DPPH

Extrait éthanolique	IC 50 (µg/ml)
<i>C. azarolus</i>	7,25 ± 0,05
<i>R. alaternus</i>	43,59 ± 3,91
<i>C. albidus</i>	3,84 ± 0,30*
<i>R raetam</i>	76,01 ± 0,72
<i>Rutine</i>	2,85 ± 0,15*

(Bounoua et Bouhamida, 2012).

- Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.

- \* : la différence n'est significative à un seuil de P<0,05.

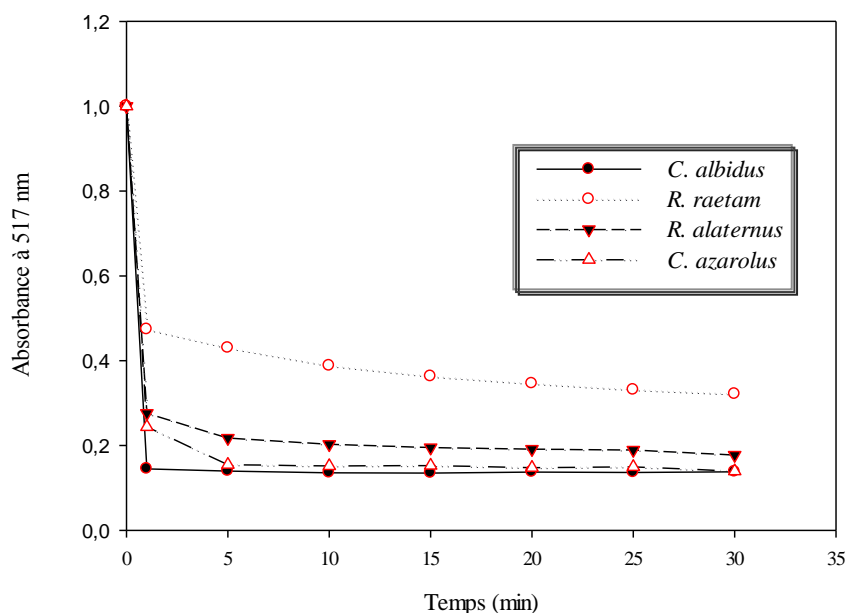
L'extrait de *C. albidus* et *C. azarolus* sont les plus efficaces en termes d'activité antiradicalaire contre le DPPH, en montrant les IC<sub>50</sub> les plus basses. L'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles de *C. albidus* est comparables (P< 0,05) à celle de la rutine : 2,85 µg/ml.

Cependant, les extraits de *R. alaternus* et *R. raetam* ont exprimé les IC<sub>50</sub> les plus élevées, reflétant ainsi les activités antiradicalaires les plus faibles.

#### IV.3.1.3. Résultats de l'activité anti-DPPH en fonction du temps

La caractéristique principale d'un antioxydant est sa capacité de capter les radicaux libres. Pour se renseigner sur la vitesse de réduction du radical et la puissance d'un antioxydant, nous avons réalisé un suivi de la réaction de réduction par mesure de l'abaissement de l'absorbance dans le temps, ce qui est bien montré dans la figure N° 21.

Les extraits de *C. albidus* et *C. azarolus* ont prouvé, encore une autre fois, leurs caractères anti-DPPH le plus prononcé en atteignant le niveau de destruction de DPPH le plus important, dans un intervalle de temps le plus court ; tandis que l'extrait de *R raetam* est le moins efficace.



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

Figure 21 : cinétique de l'activité anti-DPPH des extraits des plantes en fonction du temps.

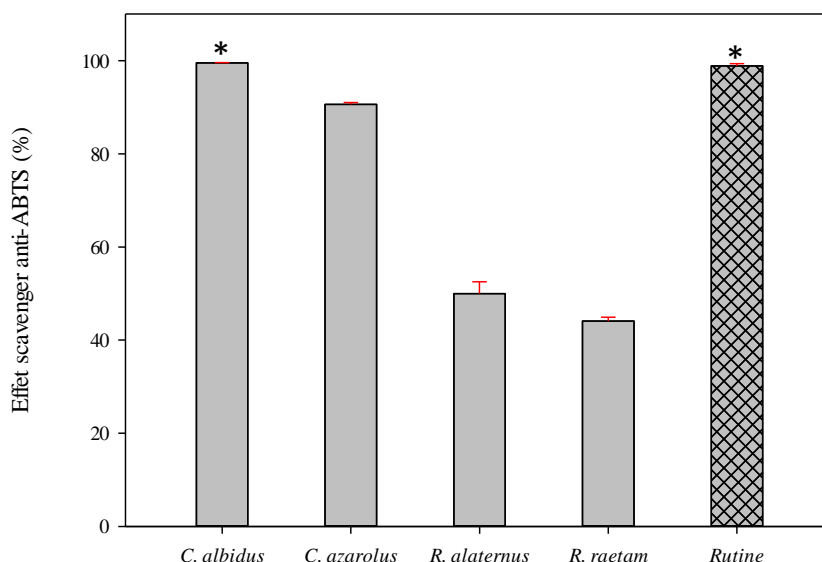
### IV.3.2. Test anti-ABTS

#### IV.3.2.1. Résultats de l'activité anti-ABTS des extraits à 100 µg/ml

La figure ci-dessous confirme que les feuilles de *C. albidus* sont les plus actives contre l'ABTS. Leur effet à 100µg/ml, est le plus élevé ( $P < 0,05$ ) des autres; et comparable à celui de la molécule standard (98.88%). L'extrait de feuilles de *C. azarolus*, a montré aussi une bonne activité anti-radicalaire avec un taux de 90%.

L'extrait méthanolique et éthanolique de feuilles de *C.ladaniferus*, à 1µg/ml, a une activité antiradicalaire importante selon Mahassine et al (2010).

Par contre, *R raetam* et *R. alaternus* viennent en dernière position en termes de cette activité. Malgré l'effet assez important des feuilles de *R. alaternus* contre le radical DPPH, leur effet est faible et peu significatif contre le radical ABTS, cela pourrait s'expliquer par l'affinité variable des molécules antioxydantes vis-à-vis des deux radicaux synthétiques.



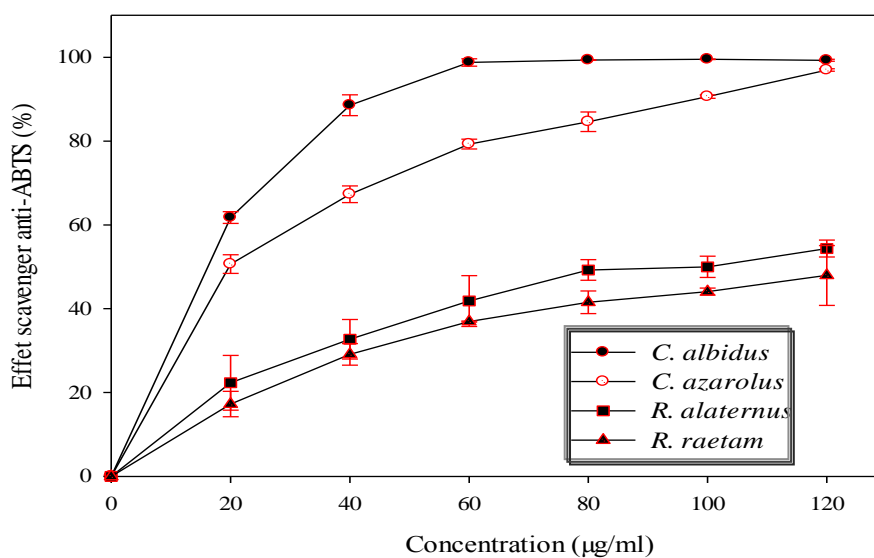
(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 22 :** effet anti-ABTS des extraits des plantes à 100 µg/ml.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.  
 - \* : la différence n'est significative à un seuil de P<0,05.

#### IV.3.2.2. Résultats de l'activité anti-ABTS en fonction de la concentration des extraits

Le profil d'activité anti-radicalaire de chaque extrait testé, à différentes concentrations, vis-à-vis du radical ABTS est présenté dans la figure N° 23. C'est les extraits de *C. albidus* et *C. azarolus* qui présentent toujours une activité anti- radicalaire la plus importante.



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 23 :** effet de l'activité anti-ABTS des extraits à différentes concentrations.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.

En effet, au niveau des extraits de ces plantes, le pourcentage de l'ABTS réduit par les différents antioxydants, montre une augmentation rapide de ce dernier dans un intervalle très réduit de la dose de l'extrait brut.

D'après ses résultats, il est remarquable que les IC<sub>50</sub> les plus élevées sont celles exprimées par l'extrait de *R. raetam* et *R. alaternus*, indiquant ainsi une activité modeste contre le radical ABTS.

Et les feuilles de *C. albidus* et *C. azarolus* ont montré des IC<sub>50</sub> importantes cependant, elles restent significativement élevées ( $P < 0,05$ ) de celle de la rutine (1,7 µg/ml).

Deux molécules phénoliques : kaempferol 3-O-β-isorhamninoside et rhamnocitrin 3-O-β-isorhamninoside, isolées de feuilles de *R. alaternus*, ont montré respectivement des IC<sub>50</sub> de 120 µg/ml et 150 µg/ml contre le radical ABTS (Bhouri *et al.*, 2011).

**Tableau 6 :** valeurs des IC<sub>50</sub> (µg/ml) de l'activité anti-ABTS.

Extrait éthanolique	IC 50 (µg/ml)
<i>C. azarolus</i>	20,39 ± 1,47
<i>R. alaternus</i>	101,25 ± 1,57
<i>C. albidus</i>	16,32 ± 0,31
<i>R raetam</i>	160,6 ± 24,24
<i>Rutine</i>	1,70 ± 0,004

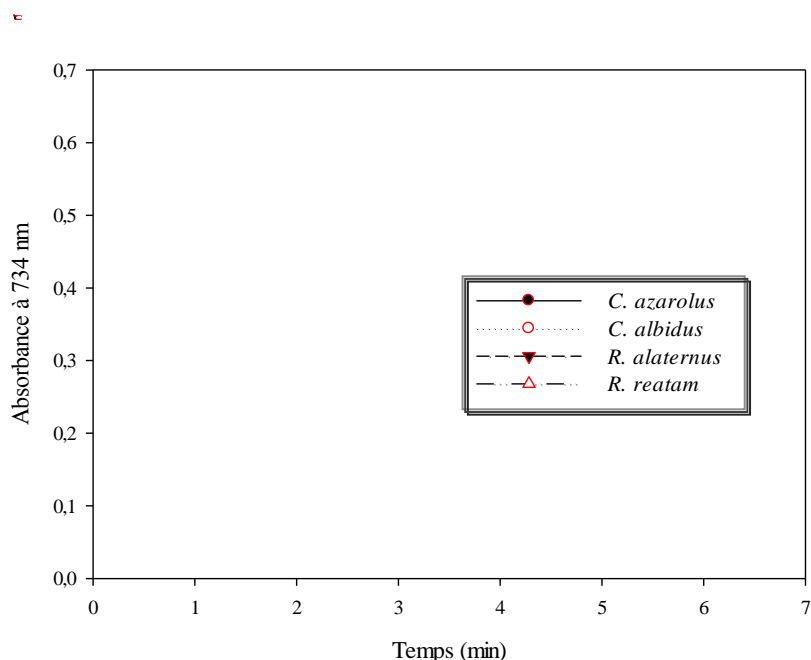
(Bounoua et Bouhamida, 2012).

- Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.

- Toutes les moyenne sont significativement différentes à un seuil de  $P < 0,05$ .

#### IV.3.2.3. Résultats de l'activité anti-ABTS en fonction du temps

Nous avons réalisé un suivi de l'activité anti-ABTS en fonction de temps dans le but de faire ressortir la différence de l'efficacité et l'affinité des diverses molécules polyphénoliques des nos extraits, ce qui est bien montré dans la figure N°24. On a remarqué que les feuilles de *C. albidus* et *C. azarolus* atteignent le niveau de destruction d'ABTS le plus important, dans un intervalle de temps le plus court, par contre, les extraits de *R. raetam* et de *R. alaternus* se sont avérés les moins efficaces et peu réactif.



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

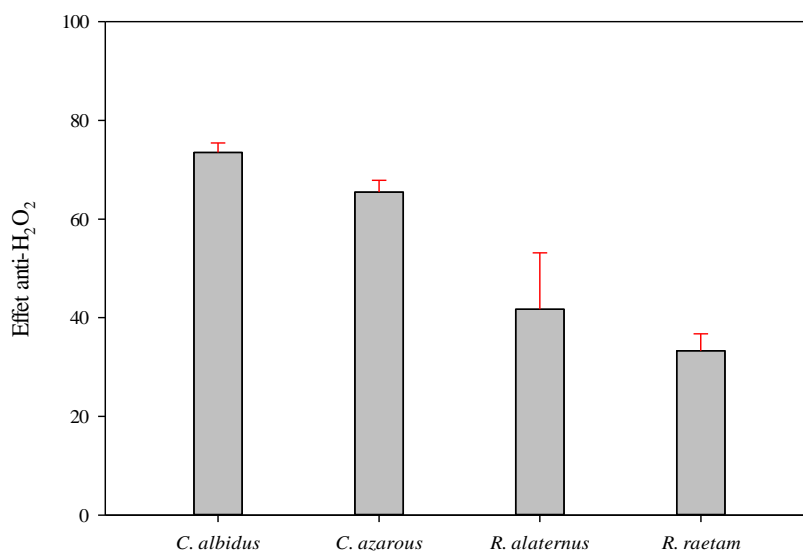
**Figure 24** : cinétique de l'effet anti-ABTS des extraits de plantes en fonction du temps.

### IV.3.3. Test anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'intérêt d'étudier la capacité des polyphénols végétaux de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) vient du fait qu'il est une espèce à l'origine de la formation des radicaux libres tel que l'anion hydroxyle (OH<sup>•</sup>) (Rolland, 2004 ; Atmani *et al.*, 2009).

#### IV.3.3.1. Résultats de l'activité anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 1mg/ml

Les résultats de destruction d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les extraits préparés à 1 mg/ml, sont illustrés dans l'histogramme ci-dessous. Le seul extrait qui a montré l'effet le plus intéressant est celui des feuilles de *C. albidus* avec un taux de 73.51%, suivi par l'extrait de *C. azarolus* avec un effet de 65.45%. Cependant, les autres plantes, notamment *R. raetam* et *R. alaternus*, sont marquées par les taux les plus faibles (inferieur à 50%).



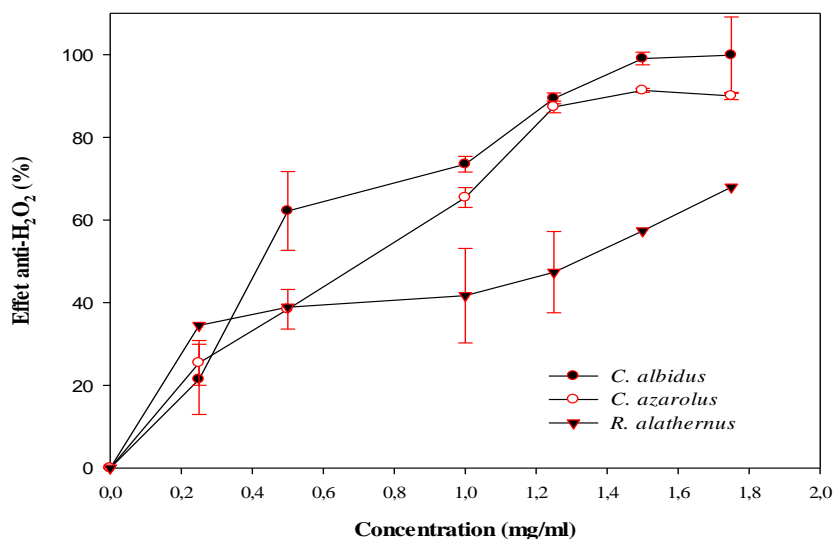
(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 25 :** effet anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des extraits des plantes à une concentration de 1 mg/ml.

- Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
- Toutes les moyenne sont significativement différentes à un seuil de P<0,05.

#### IV.3.3.2. Résultats de l'activité anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction de la concentration des extraits

A titre de remarque ; sauf les extraits de *C. albidus*, *C. azarolus*, *R. alaternus*, ont été traités à différentes concentrations contre le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. D'après les courbes montrées dans la figure N° 26, on constate que l'effet anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de l'extrait de *C. albidus*, *C. azarolus* est dépendant de la concentration de leurs extraits de façon similaire. Ces deux plantes sont efficaces à détruire 50% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à des concentrations de 0,440 mg/ml et 0,716 mg/ml.



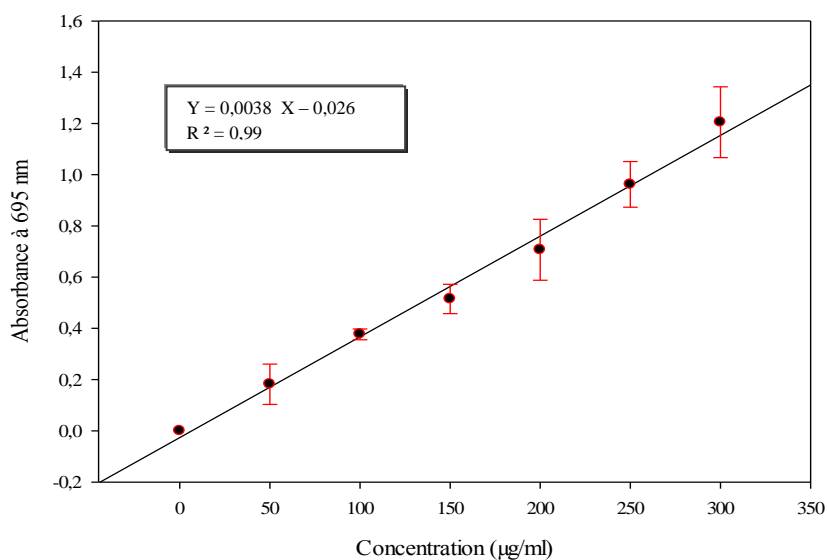
(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 26 :** effet anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des extraits des plantes à différentes concentrations.

- Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.

#### IV.3.4. Test du phosphomolybdate

Le test de phosphomolybdate est entrepris pour révéler l'activité antioxydante totale des extraits des plantes. Les résultats sont conclus à partir de la courbe ci-dessous, réalisée avec l'acide ascorbique.



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 27** : courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique.

-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

S'agissant du pouvoir réducteur, il s'est montré différent ( $P < 0,05$ ) d'une plante à une autre. L'activité de *C. albidus* et *C. azarolus* est la plus importante, suivie par l'extrait de feuilles de *R. alaternus*, tandis que l'extrait de *R. raetam* reste le plus faible.

**Tableau 7**: pouvoir antioxydant des extraits de plantes

Extrait éthanolique	Pouvoir antioxydant (µg Acide ascorbique eq 1mg de l'extrait)
<i>C. azarolus</i>	0,43 $\pm$ 0,01
<i>R. alaternus</i>	0,32 $\pm$ 0,04
<i>C. albidus</i>	0,52 $\pm$ 0,03
<i>R. raetam</i>	0,19 $\pm$ 0,02

(Bounoua et Bouhamida, 2012).

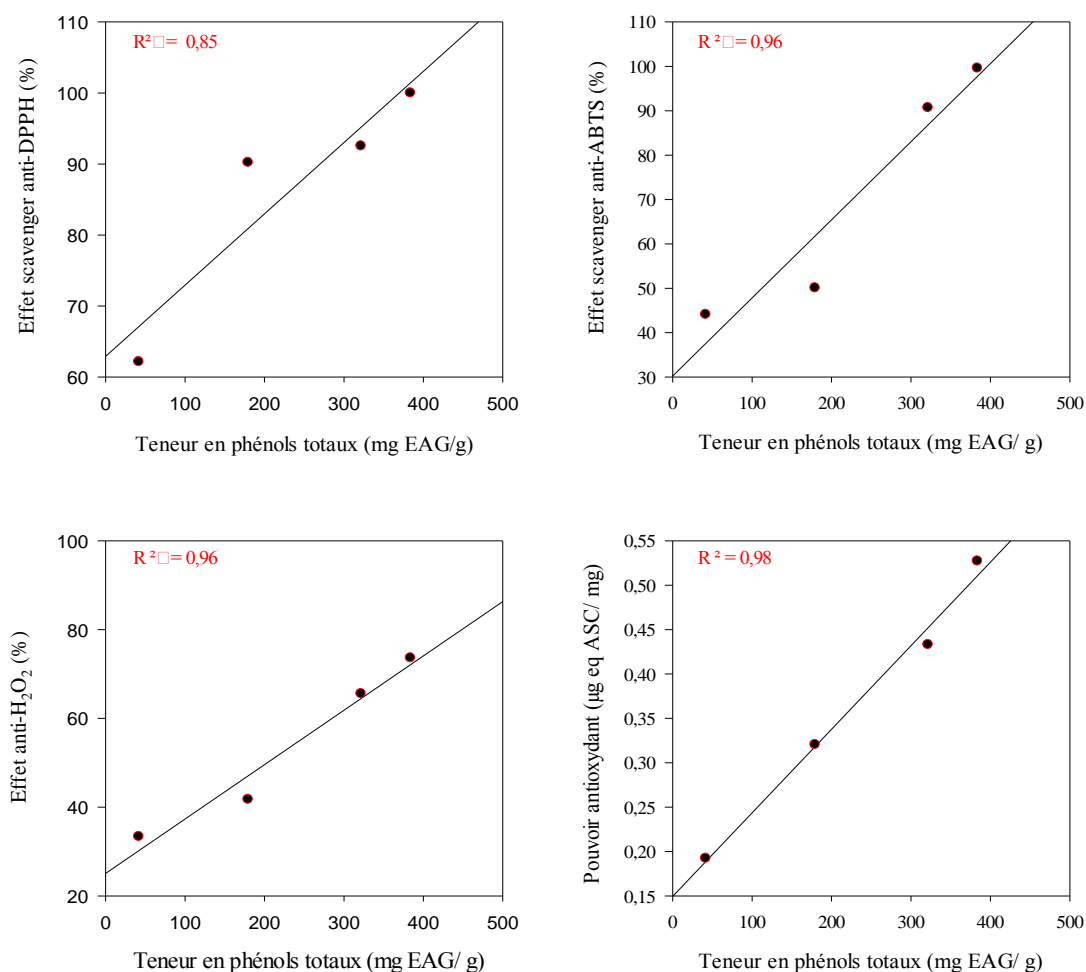
-Toutes les valeurs sont la moyenne de trois essais (n=3) avec  $\pm$  l'écartype.

- Toutes les moyenne sont significativement différentes à un seuil de  $P < 0,05$ .

#### IV.4. Corrélation

##### IV.4.1. Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en phénols totaux

Les corrélations établies ci-dessous (figure 28) indiquent que les composés phénoliques sont les molécules antioxydantes majoritaires des extraits des plantes étudiées. En effet, les teneurs des extraits des plantes ont montré des corrélations significativement importantes pour toutes les activités anti-oxydantes testées. Ainsi, on peut dire que plus de 90% des composés phénoliques, toutes formes confondues, seraient impliqués dans cette activité. Un tel résultat a été déjà rapportés dans plusieurs travaux (**Cai et al., 2004**, **Wong et al., 2006**). Cependant, l'utilisation des extraits bruts n'épargne pas l'effet anti-radicalaire que pourrait exercer des composés antioxydants non phénoliques, tels que l' $\alpha$ -tocophérol et les huiles essentielles (triterpènes), notamment *C. albidus* qui en est riche.

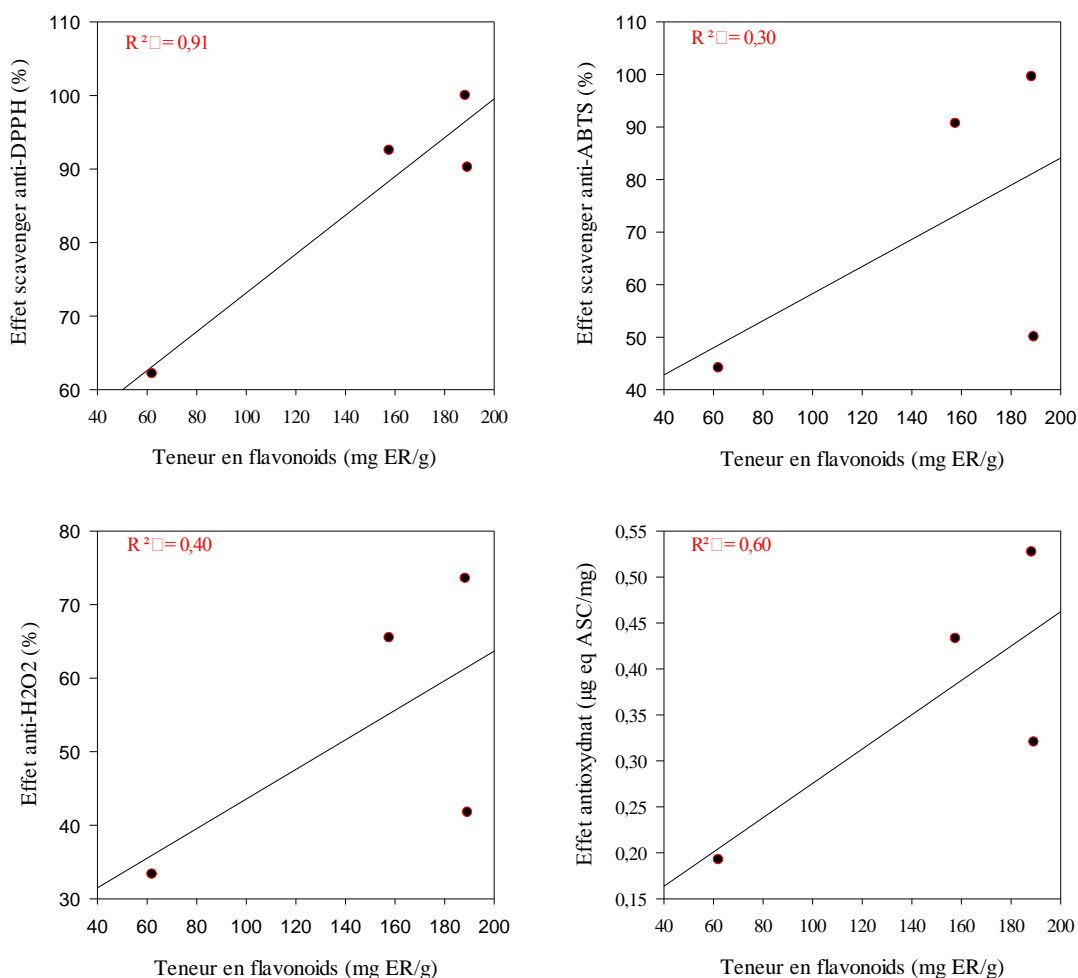


(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 28:** la corrélation entre la teneur des extraits des plantes en phénols totaux et les différents tests d'évaluation des activités antioxydantes.

#### IV.4.2. Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs en flavonoïdes

D'après ces figures, il est indiqué que mis à part l'effet anti-DPPH qui est en corrélation positive ( $R^2 = 0,91$ ) avec la teneur des extraits des plantes en flavonoïdes, les autres tests ; notamment le test anti-ABTS et anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; n'en est pas de même. Ils ont montré des corrélations de coefficient faible : l'effet anti-ABTS ( $R^2 = 0,30$ ) et anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( $R^2 = 0,40$ ). Ce résultat, montre que la richesse d'un extrait en flavonoïdes et l'effet antioxydant important n'est pas toujours une évidence. En effet, l'efficacité de l'activité antioxydant d'un extrait de plante est une caractéristique dépendant aussi de la qualité et de la structure des molécules de flavonoïdes. Un flavonoïde, de bonne activité antioxydante, doit acquérir trois caractéristiques structurales principales : (1)- Structure ortho-dihydroxy du cycle B (3',4'), cette structure est importante pour l'activité antiradicalaire des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé. (2)- La double liaison C2-C3 conjuguée avec la fonction 4 oxo qui est responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité anti-radicalaire. (3)- Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 (Soobrattee *et al.*, 2005).



(Bounoua et Bouhamida, 2012).

**Figure 29:** la corrélation entre la teneur des extraits des plantes en flavonoïdes et les différents tests d'évaluation des activités antioxydantes.



## Conclusion

De nos jours, dans le monde, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. 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.

Notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières.

Cette richesse commence à être investiguée dans beaucoup de projets de recherche. Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antioxydants des extraits bruts de quatre plantes médicinales : *Crataegus azarolus*, *Rhamnus alaternus*, *Cistus albidus* et *Retama raetam*. Ces dernières, ont fait l'objet d'une étude détaillée, commençant par l'extraction et le dosage des composés phénoliques ainsi que l'évaluation de leurs effets anti-radicalaire (anti-DPPH, anti-ABTS, anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et phosphomolybdate).

L'extraction des composés phénoliques a été faite sur une poudre fine de ces plantes en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction. Les rendements de cette étape montrent que les feuilles de *Cistus albidus* est le plus élevé en comparaison aux autres. De plus, le dosage des phénols totaux, par la méthode de Folin-ciocalteu, affirme que *Cistus albidus* est la plus riche en ces composés (384,22 mg EAG/g). Cependant, le taux le plus faible est exprimé par les feuilles de *Retama raetam*. On a conclu aussi que l'extrait de *Cistus albidus* est aussi le plus riche en flavonoïdes en démontrant un taux de (188,47 mg ER/g), suivi par l'extrait de *Crataegus azarolus* avec une valeur de (157,70 mg ER/g).

L'activité antioxydante *in vitro* est étudiée avec les méthodes de réduction du radical libre DPPH et ABTS a affirmé que les feuilles de *Cistus albidus* est les plus puissantes en manifestant les IC<sub>50</sub> les plus basses. Ceci s'explique par la richesse de cette plante en composés phénoliques. Les feuilles de *Crataegus azarolus*, classé en deuxième lieu, est aussi marqué par une IC<sub>50</sub> intéressante, tandis que les extraits de *Retama raetam* et *Rhamnus alaternus* sont marquées par les IC<sub>50</sub> les plus élevées, reflétant ainsi les activités anti-radicalaires les plus faibles.

L'établissement d'une corrélation entre l'effet anti-radicalaire et les teneurs des extraits de plantes en phénols totaux a révélé qu'environ (90%) de ces derniers sont doués d'activité anti-oxydante.

Concernant l'activité anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, l'extrait qui a fait l'exception, en montrant l'effet le plus puissant, est celui de *C. albidus* avec un taux de (73,51%), suivi par l'extrait de *C. azarolus* (65,45%). Cependant, l'extrait de *Rhamnus alaternus* est marqué par un taux faible (41,69%). La corrélation entre cette activité et les teneurs de plantes en polyphénols a montré une relation positivement proportionnelle entre ces deux paramètres (89%).

À la lumière des résultats obtenus, les extraits de plantes étudiées, notamment *C. albidus* et *C. azarolus*, seraient de bonnes sources de molécules bioactive à caractère anti-radicalaire. Et cet effet, cette étude mérite d'être approfondie en proposant comme perspectives de :

- Déterminer la structure des substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être une alternatif des médicaments synthétiques.
- Appliquer des méthodes d'évaluation d'autres activités biologiques : effet anti-inflammatoire, analgésique, anti-hypertensif .....etc.
- Vérifier les propriétés biologiques de ces plantes *in-vivo*, car une substance ayant une très bonne active biologique *in vitro*, peut ne pas l'être, une fois pénétrée dans le corps ; alors une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue globale sur les propriétés thérapeutiques des plantes.

## Références bibliographique

- Abdelguerfi, A. ; et Ramdane, S. A. 2003.** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires a la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture bilans des expertises, *Tome XI. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement.* 241p.
- Adams, M.; Gmünder, F.; and Hamburger, M. 2007.** Plants traditionally used in age related brain disorders-A survey of ethnobotanical literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 363-381.
- Aganga, A.A.; Mosase, K.W. 2001.** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 107-113.
- Aït Youssef, M. 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. *Éditions Ibis Press. Paris.* 92-278
- **Al-Mustafa, A.; Al-Thunibat, Y. 2008.** Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11 (3): 351-358.
- Ammar, R.B.; Bouhlel, I. ;Valenti, V. ; Ben Sghaier, M. ; Kilani, K. ; Mariotte, A-M. ; Dijoux-Franca, M-G. ; Laporte, F. ; Ghedira, K. ; Chekir-Ghedira, L. 2007.** Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts: Combination with polyphenolic compounds and classic *in vitro* assays. *Chemico-Biological Interactions*, 168: 171-183.
- Anthoula, A. 2003.** Plantes Aromatiques & Médicinales. FAO Projet "Assistance au Recensement Agricole".
- Asase, A.; Opong-Mensah, G. 2009.** Traditional antimalarial phytotherapy remedies in herbal markets in southern Ghana. *Journal of Ethnopharmacology*, 126: 492-499.
- Atawodi, S.E. 2005.** Antioxidant potentiel of african medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2): 128-133.
- Atmani, D.; Chaher, N. ; Berboucha. ; M. ; Ayouni, K., Lounis, H. ; Boudaoud, H. ; Deddache, N. ; and Atmani, D. 2009.** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerien medical plants.*Food Chemistry*, 112: 303-309.
- Baldé, NM; Youlal, A.; Baldé, MD. ; Kakél, A.; Diallo, MM. ; Baldé, MA. ; and Maugendre, D. 2006.** Herbal medicine and treatment of diabetes in Africa: an example from Guinea. *Diabetes Metab*, 32: 171-175.
- Barrajón-Catalán, E. ; Fernández-Arroyo, S. ; Saura, D. ; Guillén, E. ; Fernández-Gutiérrez, A. ; Segura-Carretero, A. ; et Micol, V. 2010.** Cistaceae aqueous extracts

containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2273-2282.

**-Beers, H. M.; Fletcher, J. A.; Jones, V. T.; Porter, R.; Berkwits, M. ; and Kaplan, L. J. 2007.** Larousse, L'encyclopédie Médicale, *Le Manuel Merk. Les éditions Larousse. Paris.* 1870p.

**-Beloued, A. 2003.** Plantes médicinales d'Algérie. *Éditions 2-01-4267.* 142p.

**-Benhouhou, S. A.** Guide to Medicinal Plants in North Africa. 225-226p.

**-Berrin, Y.; Ali, O.; Umut, S.; Meltem, E.; Murat, B.; and Barut, Y. 2006.** Multi-organ toxicity following ingestion of mixed herbal preparations: *unusual but dangerous adverse effect of phytotherapy.* *European Journal of Internal Medicine*, 17: 130-132.

**-Bhourri, W.; Ben Sghaier M.; Kilani, S.; Bouhlel, I.; Dijoux-Franca, M-G.; Ghedira, K.; Ghedira L-C. 2011.** Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): Kaempferol 3-O- $\beta$ -isorhamminoside and rhamnocitrin 3-O- $\beta$ -isorhamminoside. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1167–1173.

**-Bors, W.; Michel, C.; and Stettmaier, K. 1997.** Antioxidant effects of flavonoids. *British Library*, 6: 399-402.

**-Boudet, A. M. 2007.** Evolution and current status of research in phenolic compounds phytochemistry, 68: 2722-2735.

**-Boyd, B.; Ford C.; Koepke Michael C.; Gary K.; Horn E.; et Mc Analley B. 2003.** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4(6), 7p.

**-Cai, Y.; Luob, O.; Sunc, M.; and Corkea, H. 2004.** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157–2184.

**-Chagan, L.; Bernstein, D.; Cheng, J. WM.; Kirschenbaum, H. L.; Rozenfled, V.; Caliendo, G. C.; Meyer, J.; and Mehl, B. 2005.** Use of biological based therapy in patients with cardiovascular diseases in a university-hospital in New York City. *Complementary and Alternative Medicine*, 5:4.

**-Cheriet, T. 2011.** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Linaria atlantica boiss.* & *Reut.* *Universite Mentouri Constantine.*

**-Cotelle, N.; Bernier, J. L.; Catteau, J. P.; Pommery, J.; Wallet, J. C.; Gaydou, E. M. 1996.** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology & Medicine*.20: 35-43.

**-Croteau, R.; Kutchan, T.M.; and Lewis, N.G. 2000.** Natural Products (Secondary Metabolites). *American Society of Plant Physiologists*,1250-1318.

- Cseke, J. L.; Kirakosyan, A.; Kaufman, P.B.; Warber, S.; Duke, J.A.; and Brielmann, H.L. 2006.** natural Products from Plants. Taylor & Francis Group. 2nd ed. New York. 551p.
- Diallo, D. ; Sanogo, R. ; Yasambou, H. ; Traoré, A. ; Coulibaly, K. ; and Maïga, A. 2004.** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie*, 7: 1073-1080.
- Ernest, E. 2006.** Herbal remedies for anxiety – a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedicine*, 13: 205-208.
- Favier, A. 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Ferne, A. R. 2007.** The future of metabolic phytochemistry: Larger numbers of metabolites, higher resolution, greater understanding : Review. *Phytochemistry*, 68: 2861–2880.
- Fragoso, R. L.; Reyes-Esparza, J.; Burchiel, S.; Herrera-Ruiza, D.; and Torrec, E. 2008.** Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México. *Toxicol Appl Pharmacol*, 227(1):125-135.
- Georgetti, S.R. ; Casagrande, R. ; Di Mambro, V.M.; Azzolini Ana ECS.; AND Fonseca Maria, J.V. 2003.** Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoid by the Chemiluminescence Method. *AAPS PharmSci*. 5(2), 5p.
- Gonçalves, S.; Gomes, D.; Costa, P.; Romano, A. 2013.** The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 43: 465– 47.
- Gramza, A.; Korczak J. 2005.** Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends Food Sci Technol*, 16: 351-358.
- Guignard, J. L.; Cosson, L.; Henry, M. 1985.** Abrégé de phytochimie. Masson.p
- Hadi, M. 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et application thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : *Pharmacochimie*. 155p.
- Hamza, N. 2011.** Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « *high fat* » chez la souris C57BL/6J.
- Heim, K.E.; Tagliaferro, A. R. and Bobilya, D. J. 2002.** Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- Hosein, S.R. ; et Lytle, M. 2001.** Les Antioxydants. Traducteur : Alain Boutilier. Catier Feuillet d'information. 5p.

- Jean, J. ; Macheix ; Annie ; Fleuriet ; Christian, J-Allemand .2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Édition Presses polytechniques et universitaires romandes, CH-1015 Lausanne, 1-160p.*
- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., Simic, M.G., 1994.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116: 4846–4851.
- Khadri, A. ; Neffati, M. ; Smiti, S. ; Fale, P. ; Lino, A. ; Rosa L. ; Serralheiro, M. ; Luisa M., Araújo, M. ; and Eduarda, M. 2009.** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. *LWT – Food Science and Technology*, 43: 331-336.
- Kaur, R. ; Arora, S. ; and Singh, B. 2008.** Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *Bioresource Technology*, 99: 7692-7698.
- Kraft, K. 2009.** Complementary/Alternative Medicine in the context of prevention of disease and maintenance of health. *Preventive Medicine*, 49: 88-92.
- Krippel-Drews, P.; LANG, F.; Haussinger, D. and Drews, G. 1994.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch*, 426: 552-544.
- Kubola, J.; and Siriamornpun, S. 2008.** Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*, 110: 881-890.
- Lin, C.; Chen, C.; Liang, Y. and Lin, J. 2002.** Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294: 167-172.
- Macheix, J. J.; Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C.H. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*. 192p.
- Mahassine, A.; Esther, S.; Pérez-Alvarez, J.A.; Skali-Senhaji, N.; Abrini, J. and Fernández-López, J. 2010.** Antioxidant Activity and Chemical Content of Methanol and Ethanol Extracts from Leaves of Rockrose (*Cistus ladaniferus*). *Plant Foods Hum Nutr*, 65: 170-178.
- Maisuthisakul, P.; Pongaswatmanit, R. and Gordon, M. H. 2007.** Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from tea (Cratoxylum formosum Dyer). *Food Chemistry*, 100: 1620-1629.
- Marc, F. ; Davin, A. ; Deglène-Benbrahim, L. ; Ferrand, C. ; Baccaunaud, M. et Fritsch P.2004.** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecinesciences*, 20: 458-463.
- McCord, J.M. 1995 .**Superoxide radical: Controversies, contradictions and paradoxes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 202: 112-117.
- Meot-Duros, L. ; et Magne, C. 2009.** Antioxidant activity and Phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 37- 41.

- Middleton, E.; Kandaswami, C.; and Theoharides, T.C. 2000.** The effect of flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacology Review*, 52 (4): 651-674.
- Mitra, S. 2003.** Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. *John Wiley & Sons edition .Hoboken, New Jersey.*162-458p.
- Mohammedi, Z. 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Université de Bou Baker Belkaïd Tlemcen.*
- Molassiotis, A.; Potrataa, B.; and Cheng, K. K. F. 2009.** A systematic review of the effectiveness of Chinese herbal medication in symptom management and improvement of quality of life in adult cancer patients. *Complementary therapies in medicine*, 17: 92-120
- Morel, Y. et Barouki, R. 1999.** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*, 342 (3):481-496.
- Nagao, A.; Seki, M. and Kobayashi, H. 1999.** Inhibition of xanthine oxydase by flavonoids. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 63 (10): 1787-1790.
- Novelli, G. P. 1997.** Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol*, 48: 517-527.
- Nsour, W. M.; Lau, C. B.-S.; and Wong, I. C. k. 2000.** Review on phytothérapie in epilepsy Seizure, 9: 96-107.
- Pedneault, K.; Leonhart, S.; Angenol, L.; Gosselin, A.; Ramputh, A. et Arnason, J.T. 2001.** Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Texte de conférence, 5ème colloque sur les produits naturels d'origine végétale, *Université Laval, Qc, Canada*, 1-5.
- Pietta P.G. 2000.** Flavonoids as antioxydants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.
- Pincemail, J.; Meurisse, M.; Limet, R. et Defraigne, J.O.1999.** L'évaluation du stress oxydative d'un individu : une réalité pour le médecin Vaisseaux, Cœur, Poumon.4(5).
- Prieto, P.; Pineda , M.; Aguilar, M .1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337-341.
- Rakotoarison, D. A.; Gressier B.; Trotin, F. et al. 1997.** Antioxidant activities of polyphenolic extracts from flowers, in vitro callus and cell suspension cultures of *Crataegus monogyna*. *Pharmazie*, 52: 60-64.
- Ramawat, K.G. ; Dass, S. ; and Mathur, M. 2009.** Chapter 2: The Chemical Diversity of Bioactive Molecules and Therapeutic Potential of Medicinal. *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*, 7-32.

- RAO, A. SVC; Reddy, S. G.; Babu, P.P.; and Reddy, A. R. 2010.** The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Najavara rice bran. *Complementary and Alternative Medicine*, 10:4.
- Re, R.; Pilegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; and Rice-evans, C. 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolonization assay. *Free Radical Biol. Med*, 26: 1231-1237.
- Reed, J. D. 1995.** Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *Journal Animal Science*, 73: 1516-1528.
- Rice-Evans, C. 2001.** Flavonoid as Antioxidants. *Current medicinal chemistry*, 8: 797-807.
- Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; and Glover, W. 1999.** Phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits. *Foods Chemistry*, 66: 401-436.
- Rolland, Y. 2004.** Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, 11: 419-424.
- Ruch, R. J.; Cheng, S.-J.; & Klaunig, J. E. 1989.** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10: 1003–1008.
- Shaohua, Z.; Ananda, S.; Ruxia, Y.; Liang, R.; Xiaorui, C.; and Liang, L. 2010.** Fatal renal failure due to the Chinese herb “GuanMu Tong” (*Aristolochia manshuriensis*): Autopsy findings and review of literature. *Forensic Science International*, xxx: xxx-xxx.
- Siddhuraju, P.; Becker, K. 2007.** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1): 10-19.
- Sinha, S.; and Saxena, R. 2006.** Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*, 62: 1340-1350.
- Soobrattee, M. A.; Neergheen, V. S.; Luximon-Ramma, A.; Aruoma. O. I.; and Bahorn, T. 2005.** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agent: Mechanism and actions. *Mutation Research*, 579: 200-213.
- Suzuki, J.I.; Isobe, M.; Morishita, R.; and Nagai, R. 2009.** Tea Polyphenols Regulate Key Mediators on Inflammatory Cardiovascular Diseases: A Review. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation*, 4928: 1-5.
- Tahraoui, A. ; El- Hilaly, J. ; Israili, Z.H. ; and Lyoussi, B. 2007.** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*, 110: 105-117.
- Vansant, G. 2004.** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». *Ed Institut Danone*.

- Vermerris W.; and Nicholson, R. 2006.** Phenolic Compound biochemistry. *Springer Science. Netherlands.* 276p.
- Villano, D.; Fernandez-pachon, M. S. ; Moya, M. L. ; Traoncoso, A. M. ; and Garcia-parrilla, M. C. 2007.** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71: 230-235.
- Wojdylo, A.; Oszmianski, J.; and Czemerzys, R. 2007.** Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105: 940-949.
- Wong, C. C.; Li.; H. B.; Cheng, K. W.; and Chen, F. 2006.** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97: 705-711.
- Zeghad, N. 2008.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Université Mentouri Constantine*.
- Zhang, W. J.; and Olofs Björn, L. 2009.** The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia*, 80: 207-218.

**Annexe 1:** Quelques exemples de sources végétales riches en composés phénoliques connus pour leurs effets thérapeutiques (Jean-Jacques *et al.*, 2005).

	<b>Principaux composés</b>	<b>Activités biologiques principales</b>
<b>Ginkgo (feuilles)</b> <i>Ginkgo biloba</i> L.	Flavonols : mono, di et triglycosides du kaempférol, de la quercétine et de l'isorhamnétine	Effet antioxydant, action neuroprotectrice, action positive sur la circulation cérébrale
<b>Soja (jeunes pousses)</b> <i>Glycine max</i> L.	Phytoestrogènes du groupe des isoflavonoïdes (génistéine, daidzéine et glycitéine et leurs dérivés glycosylés et acylés	Action anticancéreuse, troubles de la ménopause, diminution du cholestérol sanguin, protection contre les accidents cardiovasculaires
<b>Lin (graines)</b> <i>Linum sp.</i>	Phytoestrogènes du groupe des lignanes	Action anticancéreuse, prévention des accidents coronariens
<b>Houblon (cônes floraux)</b> <i>Humulus lupulus</i> L.	Phytoestrogène : 8-prénylnaringénine Proanthocyanidines (dérivés de la catéchine, de l'épicatéchine, de l'épigallocatechine)	Action œstrogénique, effet antioxydant
<b>Pin maritime (écorce)</b> <i>Pinus maritima</i> L.	Proanthocyanidines à base de catéchine et d'épicatéchine Acides benzoïques et hydroxycinnamiques libres et glycosylés	Effet antioxydant, anti-inflammatoire, inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines
<b>Raisin (pépins et vin)</b> <i>Vitis vinifera</i> L.	Catéchine, épicatéchine Proanthocyanidines oligomères Tannins condensés	Effet antioxydant, protection contre les affections cardiovasculaires
<b>Raisin, vin rouge</b>	Resvératrol	Diminution de l'agrégation des plaquettes sanguines, action anticancéreuse
<i>Podophyllum peltatum</i> L.	Podophyllotoxine (lignane)	Action anticancéreuse et antivirale
<b>Trèfle des prés (jeunes pousses)</b> <i>Trifolium pratense</i> L.	Isoflavones (formononétine, biochanine A)	Action phytoestrogénique voisine de celle du soja
<b>Luzerne</b> <i>Medicago sativa</i> L.	Coumestrol	Propriétés œstrogéniques
<b>Argumes (fruits)</b> <i>Citrus sp.</i>	O- et C-glycosides de flavones et flavonones (naringine, diosmine, hespéridine) Flavones polyméthoxylées	Action anti-inflammatoire, action anticancéreuse, augmentation du tonus veineux

**Annexe 2** : les principaux radicaux libres et leurs précurseurs (**Rolland, 2004**).

Radicaux libres	Espèces à l'origine de radicaux libres
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> radical anion superoxyde	<b>O<sub>2</sub></b> oxygène singulet
<b>OH<sup>•</sup></b> radical hydroxyle	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> peroxyde d'hydrogène
<b>HO<sub>2</sub><sup>•</sup></b> radical perhydroxyle	<b>ROOH</b> hydroperoxyde
<b>RO<sup>•</sup></b> radical alcoxyle (carbonyle excité)	
<b>ROO<sup>•</sup></b> radical peroxyde	