



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



**Université Amar Thelidji- Laghouat**

FACULTE : TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS

**MEMOIRE DE MASTER**

Présenté par : **MECHIKEL Abdessalaame**

**DENNAKA Taher**

DOMAINE : Sciences et Technologies

FILIERE : Génie des Procédés

OPTION : Génie des Procédés de l'environnement

**Thème**

**Etude de l'activité antioxydant des extraits  
phénoliques d'*Aquilaria malaccensis* et  
*Saussurea costus***

**Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
MERIGUI Khaled	MAA	Président
MAHDJOUBI Hadj aissa	MCB	Examineur
GUENANE Hadjira	Pr	Rapporteur
DJEKIDEL Alia	Doctorante	Co-rapporteur

**Promotion : JUIN 2025**

## Remerciements

Avant tout nous tenons à remercier le bon Dieu, le tout puissant pour la volonté, la santé, le courage et la patience qu'il nous a donné pour la réalisation de ce modeste travail.

Par ailleurs, nos parents qui ont sacrifié tous leurs efforts et leurs moyens pour nous soutenir durant toutes nos études.

Notre premier mot de remerciements, va naturellement vers notre promotrice Mademoiselle GUENANE Hadjira d'avoir acceptée de diriger ce travail.

Nous remercions également DJEKIDEL Alia, doctorante à l'Université Ammar Theliji, pour les efforts qu'elle a déployés à nos côtés.

Nous exprimons toute notre reconnaissance envers les membres du jury Mr. MERIGUI Khaled et Mr.MAHDJOUBI Hadj aissa avoir accepté de juger notre modeste travail.

A ces remerciements, nous tenons à associer tous les enseignants de département de Génie des procédés pour leur soutien et leurs encouragements.

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

Nous remercions aussi Nos familles, nos proches et nos camarades

## **DEDICACE**

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU  
De m'avoir donné la force et le courage de mener  
À bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère DJAMILA et mon très cher père M'HAMED

A mes sœur

A mon binôme : DENNAKA Taher

A mes meilleurs amis :

Raid, Abdou, Mahmoud, Bachir, Mohamed

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

## **DEDICACE**

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU  
De m'avoir donné la force et le courage de mener  
À bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère

A me sœur

A mon binôme : MECHIKEL Abdessalaame

A mes meilleurs amis :

Abdou, Bachir, Mohamed

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

# Table de matières

Remerciements.....	.....
DEDICACE .....	.....
Table de matières.....	.....
Liste des figures .....	.....
Liste des tableaux.....	.....

## Chapitre I Synthèse bibliographique

I.Généralités sur la plante étudiée.....	3
I1.1 Aquilaria malaccensis.....	3
I .1.1.1. Origine et distribution .....	3
I .1.1.2. Description morphologique et botanique.....	4
I .1.1.2.1 L'écorce de l'Aquilaria .....	5
I .1.2 Saussurea costus .....	7
I .1.2.1 Généralité.....	7
I . 1.2.1.1 Phytochimie du Saussurea costus.....	8
I . 1.2.1.2Phytocomposants des racines du S.costus.....	8
I .1.2.2 Distribution géographique (Habitat) .....	8
I .1.2.3 Description Botanique de S costus .....	9
I .2. Composés Phénoliques (Polyphénols).....	10
I .2.1. Généralités .....	10
I .2.2. Différentes classes des polyphénols .....	11
I.2.2.1. Phénols simples et les acides phénoliques .....	11
I.2.2.2. Acides hydroxybenzoïques .....	11
I.2.2.3. Acides hydrox-cinnamiques .....	11
I.2.2.4.Stilbènes .....	12
I.2.2.5. Flavonoïdes .....	13
I.2.2.6. Tanins.....	13
I.3. Propriété thérapeutique des composés phénoliques.....	13
I.3.1.Contre les maladies cardiovasculaires .....	13
I.3.2.Activité anti-cancérogène .....	13
I.3.3.Activité anti-inflammatoire .....	14
I.4. Radicaux Libres et Les Antioxydants.....	15

I.4.1. Stress oxydatif.....	15
I.4.2. Radicaux libres .....	15
I.4.3. Nature des radicaux libres .....	15
I.4.3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) .....	15
I.4.4. Antioxydants.....	16
I.4.4.1 Systèmes antioxydants.....	17
I.4.4.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	17
I.4.4.1.2. Antioxydants non enzymatiques .....	17
I.4.4.2. Utilisation des antioxydants .....	18

## Chapitre II Partie experimentale

II.1 Matériels et méthodes .....	21
II.2- Matériel végétal .....	22
II.2- L'extraction des composés phénoliques :.....	22
II.2.1. Analyse quantitative des composés phénoliques et evaluation de l'activité antioxydant .....	23
II.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux .....	23
II.2.1.2. Dosage des flavonoïdes .....	24
II.2.2. Etude d'évaluation de l'activité antioxydant .....	25
II.2.2.1. Méthode de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	25
II.2.2.2. Piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> .....	26
II.2.2.3. Méthode de phosphomolybdate.....	27
II.2.2.4. Pouvoir réducteur du fer ( <i>Ferric reducing antioxydant power</i> ) .....	28

## Chapitre III Resultat et discussion

III.1 Teneurs en composés phénoliques totaux.....	30
III.2 Teneurs en et flavonoïdes .....	30
III.3 Activité antioxydante.....	31
Conclusion.....	36
Référence.....	39
ANNEXE.....	46

## Liste des figures

<b>Figure 01: Photographie d'arbres d'Aquilaria (A), les feuilles matures sont vert-foncé avec une cuticule brillante et de forme elliptique (B), les fleurs sont petites, jaunes et regroupées en inflorescences velues (C).</b> .....	<b>4</b>
<b>Figure 02 : Écorce d'Aquilaria malasinensis</b> .....	<b>5</b>
<b>Figure 03 : La plante Saussurea lappa.(a) : feuilles, (b) racine, (c) extrait en poudre</b> .....	<b>7</b>
<b>Figure 04 : Racines de Saussurea costus</b> .....	<b>8</b>
<b>Figure 05 : Structure chimique du noyau phénol.</b> .....	<b>10</b>
<b>Figure 06 :Quelques exemples des acides hydroxybenzoïques.</b> .....	<b>11</b>
<b>Figure 07 :Quelques exemples des acides hydroxy-cinnamiques.</b> .....	<b>12</b>
<b>Figure 08:Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.</b> .....	<b>12</b>
<b>Figure 09 :Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail</b> .....	<b>21</b>
<b>Figure 10: Les écorces de tronc d'A. malaccensis avant et après le broyage</b> .....	<b>22</b>
<b>Figure 11: Racines et Poudre du Costus indien</b> .....	<b>22</b>
<b>Figure 12: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.</b> .....	<b>24</b>
<b>Figure 13: La courbe d'étalonnage de rutine.</b> .....	<b>25</b>
<b>Figure 14: Réduction de radical libre DPPH' en présence d'antioxydant.</b> .....	<b>25</b>
<b>Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique</b> .....	<b>30</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1: Les synonymes et répartition d'A. malaccensis selon UICN.....</b>	<b>3</b>
<b>Tableau 2 :Les propriétés médicinales d'A. malaccensis .....</b>	<b>6</b>
<b>Tableau 3: Utilisation ethno médicales du Costus .....</b>	<b>9</b>
<b>Tableau 4 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associée.</b>	<b>18</b>
<b>Tableau 5 :Teneurs en composés phénoliques totaux.....</b>	<b>30</b>
<b>Tableau 6:Teneurs en flavonoïdes.....</b>	<b>31</b>
<b>Tableau 7:Valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues par le test DPPH .....</b>	<b>31</b>
<b>Tableau 8 :Valeurs VCEAC mesurées par le test du phosphomolybdate .....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 9 : Valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues par le test ABTS .....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 10 : Valeurs VCEAC mesurées par le test FRAP.....</b>	<b>34</b>

# **INTRODUCTION**

## **GENERALE**

À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans le but de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes. Depuis l'Antiquité, ces plantes ont joué un rôle essentiel dans les pratiques thérapeutiques de nombreuses civilisations à travers le monde ( **Zekhnini A. and Hatimi A. 2015**).

Aujourd'hui, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, considérées comme une source de matière première inestimable pour la découverte de molécules bioactives nécessaires à la mise au point de futurs traitements. En effet, les propriétés thérapeutiques des plantes sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante (**Barla et al. 2007**).

Parmi ces métabolites secondaires, on retrouve de nombreuses familles de composés doués d'activités biologiques, telles que les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes. Ces molécules naturelles suscitent un intérêt grandissant dans le domaine de la recherche pharmaceutique et nutraceutique, en raison de leurs propriétés bénéfiques pour la santé, notamment leurs vertus antioxydantes. (**Iserin, 2001**).

Dans notre étude actuelle, nous nous intéressons particulièrement à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de

*Aquilaria malaccensis*, plante aromatique et médicinale, est un type d'arbre appartenant à la famille des Thymelaeaceae. Il pousse dans les régions tropicales et subtropicales d'Asie.

*Saussurea costus*. C'est une espèce de plante à fleurs de la famille des Astéracées. Son pays d'origine est l'Asie (Himalaya, Cachemire, Inde, Pakistan).

Cette activité antioxydante des extraits de *Saussurea costus* et d'*Aquilaria malaccensis* suscite un intérêt croissant dans le domaine de la valorisation des plantes médicinales.

Ainsi, une étude approfondie des propriétés antioxydantes de cette plante aromatique constitue un axe de recherche important pour mieux comprendre et exploiter son potentiel thérapeutique et nutritionnel.

Dans le cadre de cette étude, cette thèse est constituée de trois chapitres. Dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique de *Saussurea costus* et *Aquilaria malaccensis* (caractéristiques botaniques et classification) , l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur cette plante et ses composés phénoliques, leur biosynthèse, les huiles essentielles présentant leurs différentes structures chimiques, ainsi que leur intérêt thérapeutique.

Dans le deuxième chapitre, nous avons discuté de la partie expérimentale qui se déroule dans

Deux axes :

Dans le premier axe, nous avons extrait et déterminé la teneur en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes).

Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antioxydant d'extraits végétaux à travers quatre techniques chimiques (capture de radicaux libres DPPH, test au phosphomolybdate , test FRAP est test ABTS).

Dans le troisième chapitre, nous avons discuté des résultats obtenus, notamment la teneur en composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante des extraits de de *Saussurea costus* et *Aquilaria malaccensis*. Enfin, le travail se clôture par une conclusion

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

## I. Généralités sur la plante étudiée

### I 1.1 *Aquilaria malaccensis*

#### I.1.1.1. Origine et distribution

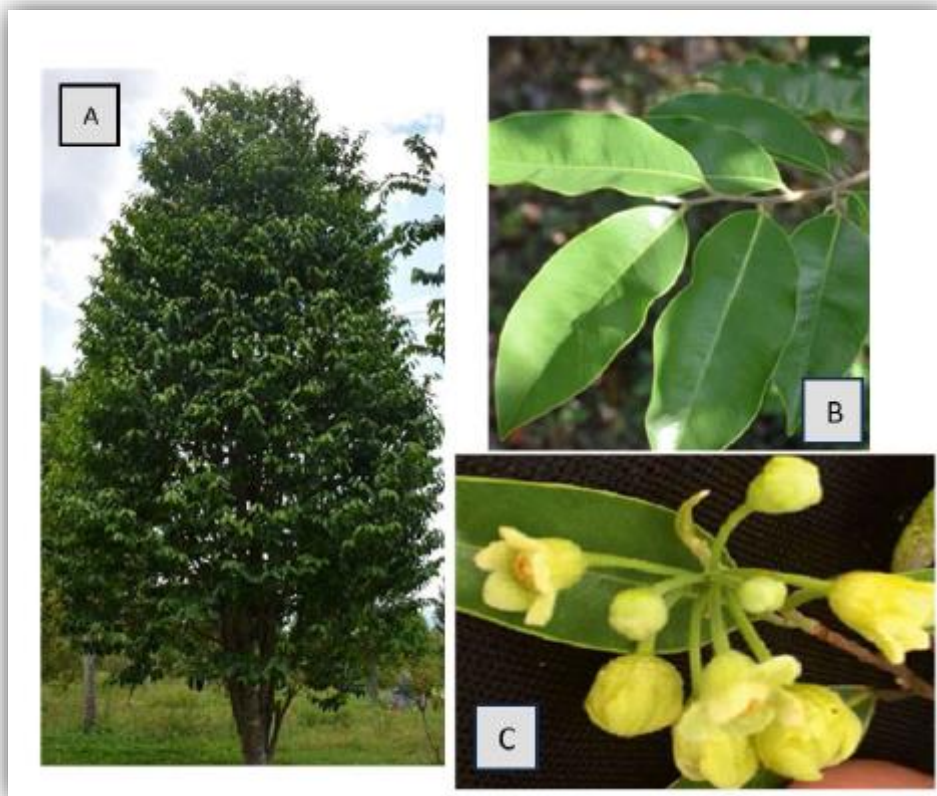
La première description du genre *Aquilaria* a été faite par Lamarck en 1783, revisitée par Hutchinson en 1924 et par Hou en 1960 (Lee et al., 2013). Il est classé dans la famille des *Thymelaeaceae* (Lim et Noorainie, 2010 ; Mitra, 2007). Grâce à certaines études, on constate que les différentes espèces d'*Aquilaria* sont assez facilement identifiables par leurs traits végétatifs (Lee et al. 2013). L'espèce la plus dominante, dont la population est répartie dans plusieurs pays, est *A. malaccensis*. Cette espèce est originaire du Sud et du Sud-Est asiatique. L'Indonésie et la Malaisie sont les deux principales sources de bois d'agar (Ahmad et al., 2016). Ce type d'espèce se trouve également au Bangladesh, au Bhoutan, en Inde, en Iran, au Myanmar, aux Philippines, à Singapour et en Thaïlande (Tableau 01) (Huda et al., 2009). Leur répartition basée sur les enregistrements précédents et leur état de conservation tel que classé par l'UICN (Union internationale pour la conservation de la nature), sont compilés dans le tableau ci-dessous (Shiou et Rozi, 2016)

**Tableau 1:** Les synonymes et répartition d'*A. malaccensis* selon UICN.

Nom D'espèce	Synonymes	Distribution
<i>Aquilaria malaccensis</i>	<i>Agallochum malaccense</i>	Bhoutan
	<i>Aloexylum agallochum</i>	India
	<i>Aquilaria agallocha</i>	Indonesia
	<i>Aquilaria agallochum</i>	Iran
	<i>Aquilaria ovate</i>	Malaisie
	<i>Aquilaria moluccensis</i>	Myanmar
	<i>Aquilaria secundaria</i>	Philippines
	<i>Aquilariella malaccense</i>	Singapour
	<i>Aquilariella malaccensis</i>	Thaïlande
		Bangladesh

### I.1.1.2. Description morphologique et botanique

Les arbres du genre *Aquilaria* peuvent mesurer entre 10 et 30 mètres (**Photo 01-A**) (**Leti et al., 2013**). Les feuilles sont vert foncé, recouvertes d'une cuticule cireuse et brillante à maturité (**Photo 01-B**). Les jeunes pousses sont vert pâle et peuvent virer au jaune si la plante pousse sur des sols pauvres en azote. La forme et la taille des feuilles dépendent de l'espèce (**Sampson, 2017**). *A. malaccensis* présente des feuilles oblongues lancéolées, caudées acuminées, lisse. Cette espèce produit des capsules avec une forme ovoïde ou ovoïde oblongue, ronde et lisse, un lobe du calice ovoïde oblongue, 2–3 mm de long, étalé ou réfléchi avec un tube du calice en forme de cloche (**Shiou et Rozi, 2016**). Les fleurs d'*A. malaccensis* sont petites, jaunâtres, bisexuelles d'environ 8 à 10 mm de diamètre (**Photo 01-C**) (**Venugopal et Estre, 2015**).



**Figure 01:** Photographie d'arbres d'*Aquilaria* (A), les feuilles matures sont vert-foncé avec une cuticule brillante et de forme elliptique (B), les fleurs sont petites, jaunes et regroupées en inflorescences velues (C).

### I.1.1.2.1 L'écorce de l'Aquilaria

L'arbre est un élément structurellement et fonctionnellement important, caractérisé par sa texture lisse, sa couleur gris pâle et son épaisseur remarquable, qui lui permet d'exercer de multiples fonctions protectrices et métaboliques. L'écorce est constituée de couches qui comprennent l'écorce externe et l'écorce interne (phloème), qui transporte les matières organiques des feuilles vers le reste de la plante. De plus, l'écorce joue un rôle central dans la réponse de l'arbre aux facteurs qui stimulent la formation de la canne, tels que les blessures mécaniques, les infections fongiques et les stimuli chimiques. Il contribue à activer les voies de défense et à produire des composés aromatiques secondaires, notamment des terpènes, qui s'accumulent ensuite dans le bois intérieur pour former le bois d'agar. Les preuves suggèrent que ce processus commence souvent dans les zones adjacentes à l'écorce et s'étend vers le tissu vasculaire, reflétant le rôle de l'écorce dans la transmission des signaux vitaux et la régulation des réponses de défense. Des études moléculaires ont également révélé une augmentation de l'expression génétique de certaines enzymes telles que la squalène synthase et la terpène synthase dans les cellules du phloème lors de la stimulation, renforçant l'hypothèse selon laquelle le phloème est un point de départ crucial dans la formation de ce précieux produit végétal.



**Figure 02** :Écorce d'Aquilaria malasinensis

Tableau 2 :Les propriétés médicinales d'A. malaccensis

Propriétés médicinales	Partie d'arbre	Description	Références
Anti cancer	Les cals et les pousses	La cucurbitacine contenue dans les cales et les pousses a montré une activité cytotoxique envers les cellules cancéreuses du sein humain.	<b>(Knecht et al., 2010) (Zhong et al., 2014)</b>
Antifongique		La cucurbitacine contenue dans les cals et les pousses a montré une activité antifongique	<b>Chen et al., 2014)</b>
Anti arthrite	Le bois de coeur	Les constituants chimiques présents dans l'huile d'oud présentaient des propriétés anti-arthrite.	<b>(Rahman et al., 2016)</b>
Antidiabétique	Les feuilles	Une fraction active provenant des feuilles a augmenté le niveau de GLUT4 dans le muscle squelettique des rats Wistar diabétiques.	<b>(Said et al., 2016)</b>
Antioxydante		Des propriétés antioxydantes de l'extrait éthanolique obtenu à partir du bois d'agar ont été confirmées.	<b>(Simatupang et al., 2015)</b>
Antibactérienne		L'extrait méthanolique des feuilles contenait de l'acide hexadécanoïque, qui présentait une activité antibactérienne.	<b>(Saïdana et al., 2008) (Khalil et al., 2013)</b>

## I.1.2 Saussurea costus

### I.1.2.1 Généralité

Saussurea costus (synonyme de Saussurea lappa). Appartient de la famille Astéracées localement connu sous le nom de Kuth (plantes, 2011) .Ou S. costus c'est une herbe pérenne robuste de l'Himalaya . Les racines de Saussurea costus alliant une odeur aromatique forte et douce avec un goût amer. Saussurea costus est une l'espèce la plus viable sur le plan commercial. Ses propriétés médicinales notamment des terpènes, des alcaloïdes, des anthraquinones et des flavonoïde sont bien documentées dans la médecine traditionnelle Chinoise ,Indien, Islamique qui s'est en rôle dans le Saint Hadith dit par le Prophète Muhammad (que la paix soit sur lui),comme Il est connu dans les pays arabes sous le nom de «Al-Kost Al Hindi» est utilisé par les guérisseurs traditionnels de puis l'ère de la civilisation islamique . Cette plante est connue depuis à l'époque utilisé pour la médecine traditionnelle indienne (Kulsoom et al,2014)



**Figure 03** :La plante Saussurea lappa.(a) : feuilles, (b) racine, (c) extrait en poudre

La racine séchée qui a un goût amer est de couleur gris sale à marron jaune et mesure environ 8 à 12 cm de long et 1 à 3 cm de diamètre. Elle est généralement ridée et striée et elle dégage une forte odeur caractéristique. La plupart du temps, l'huile essentielle de la racine et la poudre de racine sont utilisées à des fins médicinales (Madhuri et al., 2011) (Figure 04).



**Figure 04** :Racines de Saussurea costus

#### **I . 1.2.1.1 Phytochimie du Saussurea costus**

Plusieurs phytocomposants ont été isolés des racines du *S.costus* notamment des terpènes qui leurs confèrent des effets bénéfiques sur la santé humaine mais elles contiennent aussi des anthraquinones, des saponosides tritérpéniques, des flavonoïdes, des alcools polyènes et des alcaloïdes et dont certains ont doués aussi de propriétés thérapeutiques (**Zahara et al. ,2014**).

#### **I . 1.2.1.2Phytocomposants des racines du S.costus**

Les racines du *S.costus* contiennent plusieurs molécules biologiquement actives, y compris les terpènes, les lignanes, les phytosterols, les alcaloïdes, les anthraquinones etc. Cependant elles sont notamment riches en sesquiterpènes lactones et en flavonoïdes qui sont largement les responsables des effets pharmaceutiques (**Zhang et al. ,2014**).

#### **I . 1.2.2 Distribution géographique (Habitat)**

La plante de *costus* se trouvent couramment dans les pays suivants :

En Inde, Pakistan (plantes, 2011). Cette plante est endémique des régions subalpines du Jammu et Cachemire , de l'Himachal Pradesh et de l'Uttaranchal, à des altitudes de 3200 à 3800 m. La disponibilité de cette plante importante dans la nature. Elle est diminuée de jour en jour en raison de la surexploitation à différentes fins médicinales et commerciales. Inscrite à l'annexe de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES), cette espèce médicinale en danger critique d'extinction est l'une

des 37 plantes médicinales menacées de l'Himalaya et a été priorisée pour la conservation in situ et ex situ . ( Pandey et al,2006).

### I .1.2.3 Description Botanique de *S costus*

*lappa (Decne.) C.B. Plante Clarke S. lappa C.B. Clarke* , syn. *Yaconaceae* Composite, communément appelée *costus*. C'est une grande herbe vivace, atteignant 1 à 2 m de hauteur la tige est droite, robuste, fibreuse et la racine est une longue branche d'environ 60 cm de long, avec une odeur particulière. Les feuilles sont lobées, pétiolées, membraneuses, irrégulièrement dentées ; les feuilles supérieures sont petites, les feuilles basilaires sont grandes, les pétioles sont long lobés, ailés, les fleurs sont sessiles, violet foncé à noires, disposées en terminales, axillaires. D'environ 1,7 cm de long, la papaye est duveteuse et plumeuse, ce qui donne au capitule fructifère un aspect particulier. Les fruits de *S.costus* est en forme de coupe, incurvé comprimé et poilu.(Kulsoom et al,2014).

**Tableau 3:** Utilisation ethno médicales du *Costus* (Pandey et al,2006)

Conditions	Mode de candidature
Maux d'estomac	La poudre de racine se prend avec de l'eau. La décoction de racine est prise. La poudre de racine est torréfiée l'huile de moutarde et la pâte est appliquée sur l'estomac
Mal de tête	L'huile chauffée avec la racine est appliquée
Toux et rhume	La poudre de racine se prend avec de l'eau tiède
Infection de la gorge	La racine est mâchée
Maux de dos et douleurs thoraciques	La poudre de racine se prend avec du lait/décoction de poudre de racine. L'huile chauffée à la racine est massé la zone touchée
Rhumatismes et articulations douloureuses	La racine est rôtie dans du ghee/beurre, réduite en poudre et prise avec du lait. Le ghee mentionné ci-dessus / le beurre est frotté sur la zone touchée et bandé pour garder au chaud
Épuisement	Des morceaux de racines sont brûlés dans le narguilé et la fumée inhalée

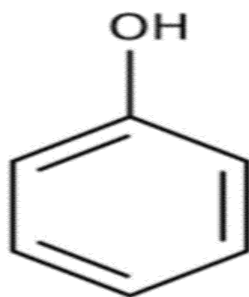
## I.2. Composés Phénoliques (Polyphénols)

### I.2.1. Généralités

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. À l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées (**Mompon et al. 1998**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier., 2006**).

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué (**Bruneton., 1993**).

Et aussi sont des substances ayant des propriétés antioxydantes très importantes, permettant de lutter contre la formation de radicaux libres en excès dans l'organisme (substances qui vont favoriser le vieillissement cellulaire), ils possèdent des propriétés bénéfiques pour la santé (**Kaliliet de Villier, 2011**).



**Figure 05** : Structure chimique du noyau phénol.

### I.2.2. Différentes classes des polyphénols

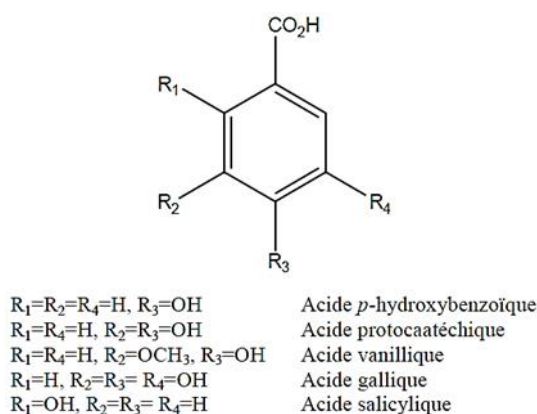
Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones. En simplifiant, les polyphénols sont séparés en 4 grandes classes (**Crozier et al, 2006**).

#### I.2.2.1. Phénols simples et les acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (**Bruneton, 1993**).

#### I.2.2.2. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Ils sont particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal. Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous formes d'esters ou des glycosides. Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique (**Bruneton, 1993**).



**Figure 06** :Quelques exemples des acides hydroxybenzoïques.

#### I.2.2.3. Acides hydrox-cinnamiques

Les acides hydroxy-cinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> dérivé de celle de l'acide cinnamique. 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 formes trans sont cependant naturellement prépondérantes et il est possible que les formes cis ne correspondent qu'à des artefacts d'extraction (Macheix, 2005).

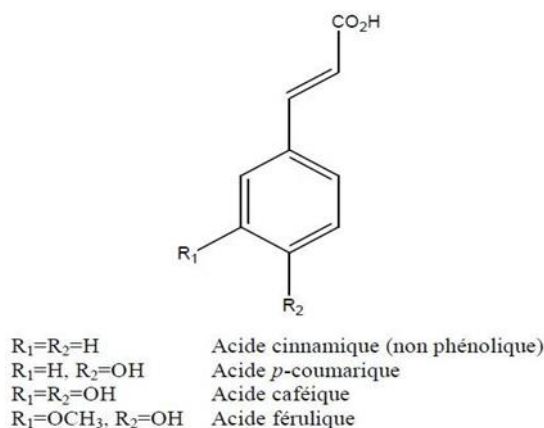


Figure 07 :Quelques exemples des acides hydroxy-cinnamiques.

#### I.2.2.4.Stilbènes

Les stilbènes présentent une structure en C6-C2-C6, avec un cycle A portant deux fonctions hydroxyles en position méta et un cycle B portant des fonctions hydroxyles ou méthoxyles en métal, ortho et para. Les deux noyaux aromatiques sont reliés par une double liaison. Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine (Belkheiri, 2010). Leur solubilité est négligeable dans l'eau et accrue dans la plupart des solvants organiques (Jean-Denis, 2005 ; Crozier et al, 2006).

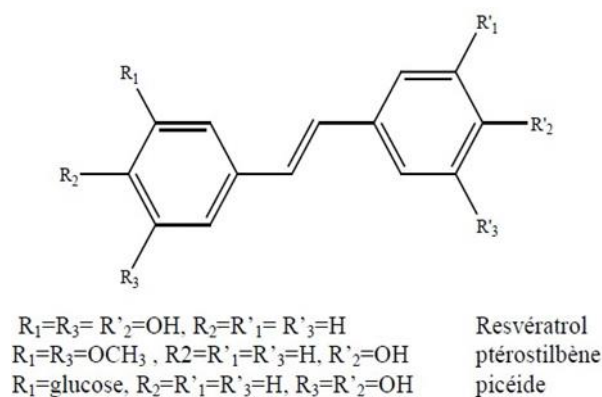


Figure 08:Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.

**I.2.2.5. Flavonoïdes**

Ils constituent le plus large groupe des phénols dans la plante. Les flavonoïdes identifiés jusqu'à maintenant sont de 4000 composés ; ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles aussi sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV.

**I.2.2.6. Tanins**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandu dans le règne végétal, ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique.

Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. On distingue : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Catier et Roux, 2007**).

**I.3. Propriété thérapeutique des composés phénoliques**

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants

**I.3.1. Contre les maladies cardiovasculaires**

Consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaires (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les polyphénols pris lors d'un repas permettraient de lutter contre l'oxydation du mauvais cholestérol(LDL). Cela empêcheraient ainsi les phénomènes à l'origine de l'obstruction des artères.

**I.3.2. Activité anti-cancérogène**

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes (**Ames et al, 1995**).

Récemment, une étude vise à évaluer l'effet hépatoprotecteur de plusieurs polyphénols, plus particulièrement des flavonoïdes sur les dommages causés à l'ADN des cellules hépatiques par divers composés hépatotoxiques et carcinogènes (qui oxydent les bases, et cause de la rupture des deux brins d'ADN). La myricétine et la quercétine ont permis de diminuer la rupture des 2 brins d'ADN (**Delgado et al, 2004**).

### **I.3.3. Activité anti-inflammatoire**

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols, peuvent prévenir de la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils inhibent l'enzyme NOS responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique, qui est déclencheur chimique de l'inflammation. D'autres études, affirment l'action inhibitrice de ces flavonoïdes, plus particulièrement la lutéoline, l'apigénine, catéchine sur la cyclo-oxygénase enzyme synthétiques des molécules impliquées fortement dans le processus inflammatoire (**Scalbert et al, 2005**).

## I.4. Radicaux Libres et Les Antioxydants

### I.4.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers (**Pincemail et al, 1999**), ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (**Morena et al, 2002**).

### I.4.2. Radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André, 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez, 1995**).

### I.4.3. Nature des radicaux libres

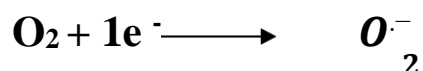
#### I.4.3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau.

Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène. L'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (**Ichai et al, 2010**).

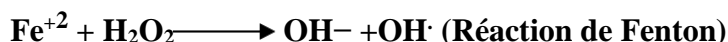
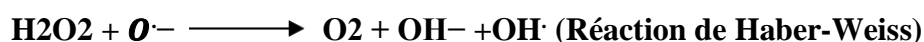
- **Anion superoxydes**

La molécule d'oxygène, en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions (**Koehler, 2006 ; Al-Mamun et al, 2007**).



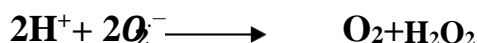
### •Radical hydroxyle

Est formé principalement par la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et de métaux de transition sous la forme réduite, comme le présente la réaction de Haber-Weiss, ou par des voies qui ne font pas appel à l'anion superoxyde (réaction de Fenton) (Lacolley, 2007).



### •Peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

C'est un oxydant faible, sa demie durée de vie se chiffre en heures. Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est le résultat d'une dismutation spontanée ou enzymatique (superoxide dismutase "SOD") du radical superoxyde (Dacosta, 2003).



Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, 2010).

### •Oxygène singulet O<sub>2</sub><sup>•</sup>

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :



#### I.4.4. Antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Park et al, 2001). Et capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du

produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit.

#### **I.4.4.1 Systèmes antioxydants**

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en deux systèmes : enzymatiques et non enzymatiques.

##### **I.4.4.1.1. Antioxydants enzymatiques**

Représentés principalement par trois enzymes :

- Le superoxyde dismutase (SOD).
- La catalase.
- La glutathion peroxydase (GPx).

##### **I.4.4.1.2. Antioxydants non enzymatiques**

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

Ces agents piègeurs possèdent plusieurs avantages par rapport aux antioxydants enzymatiques, en particulier par leur petite taille qui leur permet de traverser la membrane cellulaire et d'atteindre facilement leurs cibles. Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

##### **• Vitamine E**

Le terme générique de vitamine E désigne en fait la famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' $\alpha$ -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma chez l'homme. L' $\alpha$ -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet ( $O_2$ ) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle ( $OH\bullet$ ) mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ( $ROO\bullet$ ) pour former un radical tocophéryl.

### • Vitamine C

L'acide L'ascorbique ou vitamine C est présent le plus couramment sous forme d'ascorbate. Il est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et de l'oxygène singulet (Evans, 2000). Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyles aqueuses, le produit formé étant le radicale ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxyles dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et lipoprotéines.

Pour la partie d'antioxydants non enzymatiques, le tableau suivant rassemble les principaux antioxydants non enzymatiques et leurs sources alimentaires associées (Tableau 04) :

**Tableau 4** : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associée.

<b>Principaux nutriments antioxydants</b>	<b>Sources alimentaires</b>
<b>Vitamine C</b>	<b>Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, choux, poivron</b>
<b>Vitamine E</b>	<b>Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix</b>
<b>β-carotène</b>	<b>Légumes et fruits orangés et vert foncés</b>
<b>Sélénium</b>	<b>Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille</b>
<b>Zinc</b>	<b>Viande, pain complet, légumes verts</b>
<b>Flavonoïdes</b>	<b>Fruits, légumes, thé vert</b>
<b>Acides phénoliques</b>	<b>Céréales complètes, baies, cerises</b>
<b>Tanins</b>	<b>Lentilles, thé, raisins, vin</b>

#### I.4.4.2. Utilisation des antioxydants

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif. L'initiation des phénomènes de

réactions d'oxydations en chaîne dans l'organisme humain peut conduire à des pathologies comme l'athérosclérose, le cancer, l'infarctus, les allergies, les rhumatismes et d'autres.

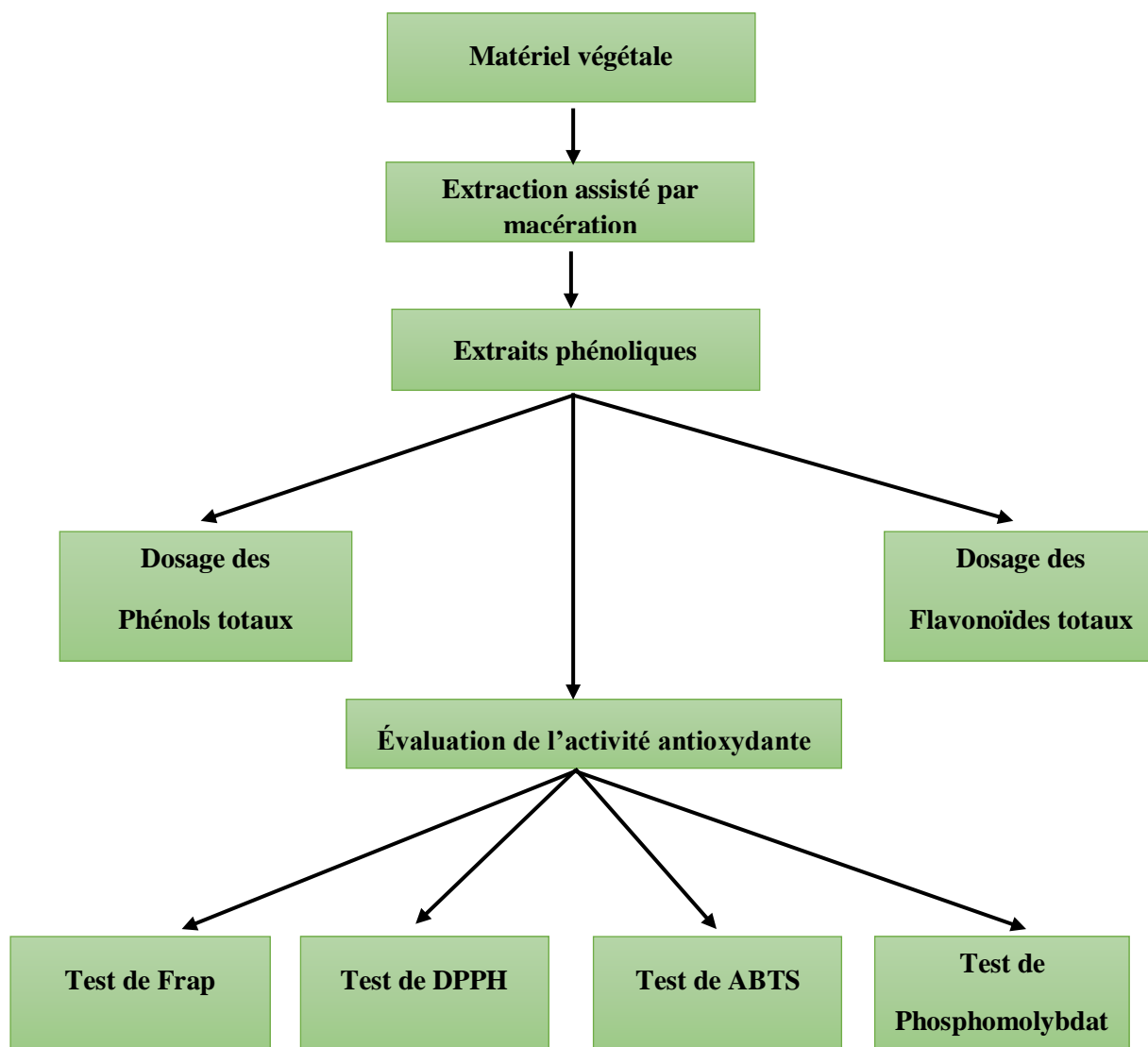
- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.

# **Chapitre II**

## **Partie experimentale**

**II.1 Matériels et méthodes**

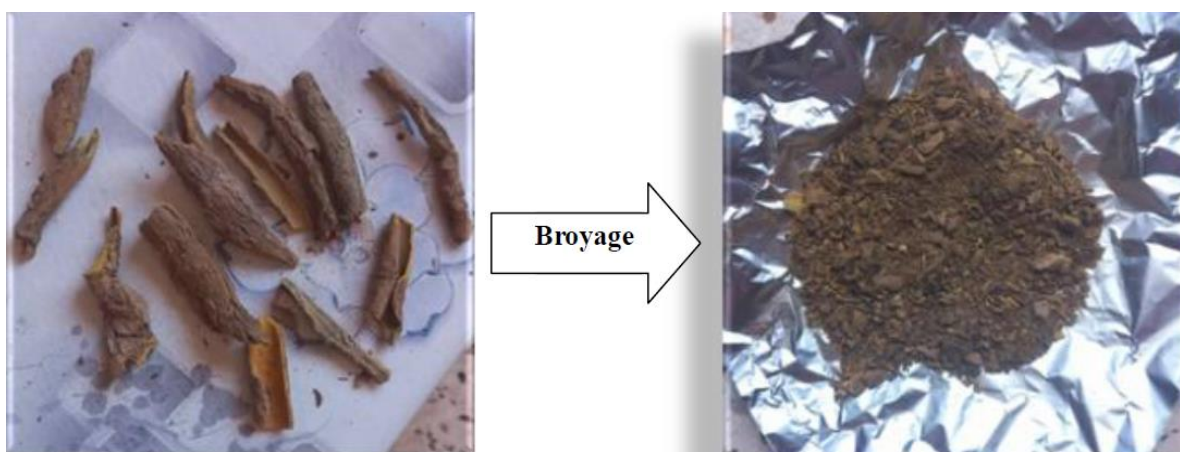
Notre travail de recherche est réalisé au niveau du laboratoire de génie des procédés de l'université Amar Telidjide Laghouat, l'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme illustré l'organigramme suivant :



**Figure 09 :** Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail

## II.2-Matériel végétal

Les racines du *costus indien* (*Saussurea costus*) et l'écorce de tronc d'*Aquilaria malaccensis* sont le matériel végétal utilisé dans ce travail. Elles ont été achetées chez un herboriste. Les racines et les écorces ont été nettoyées, séchées à l'air libre, puis broyées en poudre fine. Ces dernières ont été conservées à température ambiante dans des récipients hermétiquement fermés à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation.



**Figure 10:** Les écorces de tronc d'A. malaccensis avant et après le broyage



**Figure 11:** Racines et Poudre du Costus indien

### II.2-L'extraction des composés phénoliques :

Une quantité de 30 g de poudres Les racines du costus indien (*Saussurea costus*) et l'écorce de tronc d'*Aquilaria malaccensis* ont été mise en contact avec un système de solvant

(hexane/méthanol) aux proportions (30/70) (v/v) dans un bécher en utilisant une plaque d'agitation pendant 24 h. Après filtration, les solutions de partie concernée sont évaporées à sec à l'aide d'un rota vapeur. Les résidu secs pesés sont reconstitués par le solvant correspondant (l'éthanol) et les extraits obtenus sont conservés dans des flacons ombré en verre dans un réfrigérateur à -4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

## **II.2.1. Analyse quantitative des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydant**

### **II.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux**

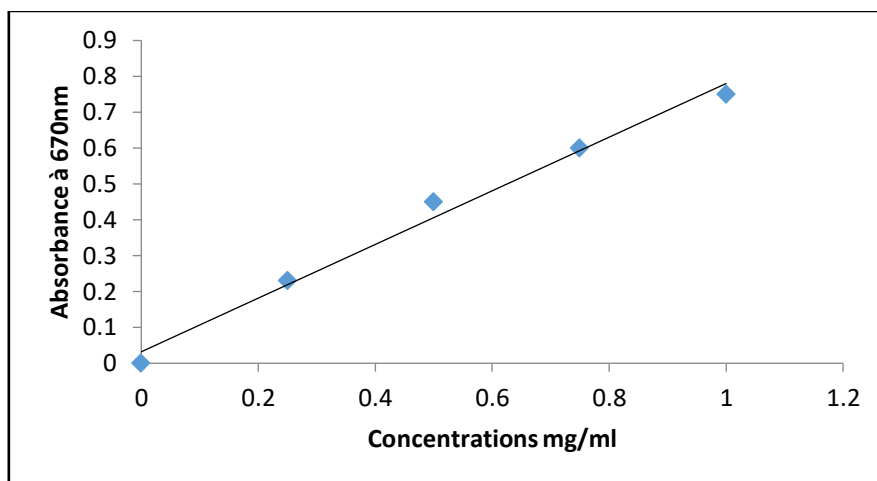
Les polyphénols produits par les végétaux en tant que métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules chimiques, dont leur nature chimique et teneur sont extrêmement variables d'une espèce à autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin– Ciocalteu est la plus utilisée.

#### **a) Principe :**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par (Gao<sup>étal.</sup>2000) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique et acide phosphomolybdique, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène et de molybdène, ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm.

#### **b) Courbe d'étalonnage :**

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de concentration massique variant de 0.25 jusqu'à 1 mg/ml. Introduire 100 µl extrait dans des tube à essai, puis ajouter 200 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) et 2ml de l'eau distillé après deux minutes ajouter encore 1ml de carbonates de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(20%) , puis mettre les solutions à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Les lectures de la densité optique à 760 nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 12:** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### II.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

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

#### a) Principe :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de Complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ . Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm (Ahn et al., 2007) .

#### b) La courbe d'étalonnage :

Des volumes égaux de l'extrait et une solution  $AlCl_3$  (2%) sont mélangés. L'absorbance est Mesurée à 430 nm, après incubation à température ambiante pendant 15min. Dans les mêmes conditions et de la même façon sont mesurées les absorbances de la série des Solutions standards de la rutine préparées à partir d'une solution mère de concentration égale à 0,1 mg/ml.

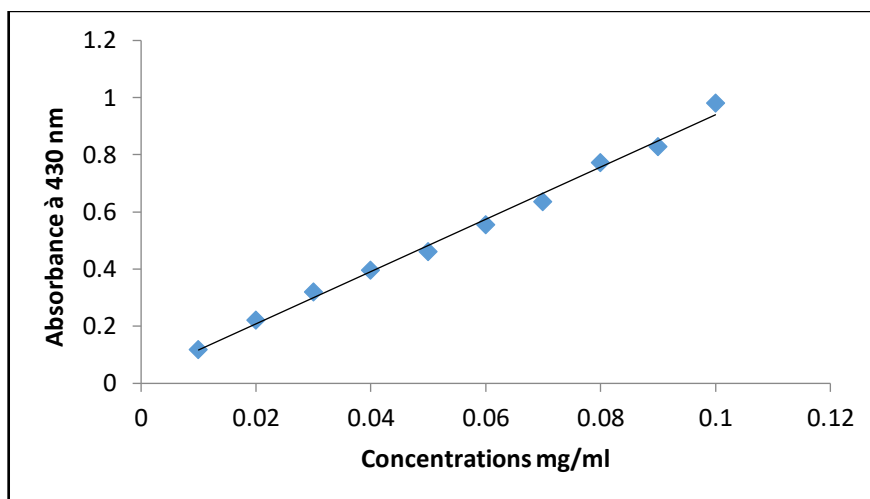


Figure 13: La courbe d'étalonnage de rutine.

## II.2.2. Etude d'évaluation de l'activité antioxydant

Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de grains de pollen de différents régions, trois techniques ont été réalisées en utilisant le radical 2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'ABTS+(Acide 2,2'azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) et la méthode de phosphomolybdate.

### II.2.2.1. Méthode de DPPH (2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl)

#### a) Principe :

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

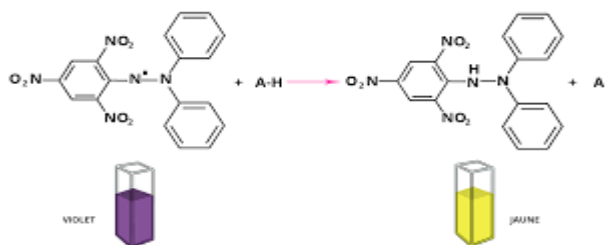


Figure 14: Réduction de radical libre DPPH<sup>•</sup> en présence d'antioxydant.

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

**c) Mode opératoire :**

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

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

$$\text{PI (\%)} = [(\text{Acontrol} - \text{Atest}) / \text{Acontrol}] \times 100$$

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

**II.2.2. Piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> (Acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))**

**a) principe :**

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

**b) Mode opératoire :**

La solution ABTS<sup>•+</sup> était préparée en mélangeant 7 mM de sel ABTS avec 2.45 mM de persulfate de potassium dans 25 ml d'eau distillée, à la température ambiante dans l'obscurité et

conservée pendant 16 h avant l'utilisation. La solution ABTS•+ a été diluée avec de l'éthanol à 95% (environ 600 µL ABTS•+ à 40 ml d'éthanol à 95%), afin d'obtenir une absorbance de 0,8 à 0,9 à 734 nm (Dorman, H.,2004). 15 µl d'extrait est ajouté à 1.485 ml de la solution radicalaire d'ABTS•+. Le mélange est incubé à 37°C à l'abri de la lumière.les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Abs_{\text{Contrôle}} - Abs_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{Contrôle}}]$$

**Abs Contrôle:** Absorbance du contrôle du milieu réactionnel sans l'antioxydant.

**Abs Echantillon:** Absorbance de l'échantillon du milieu réactionnel avec l'antioxydant.

### II.2.3.Méthode de phosphomolybdate

#### a) Principe :

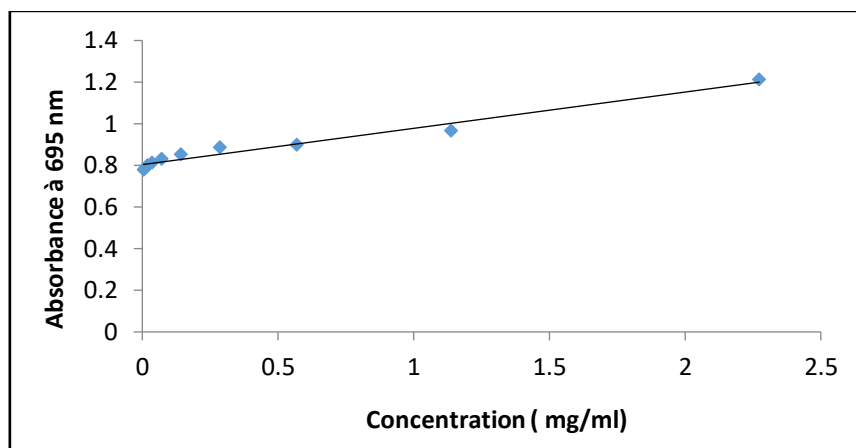
La méthode de Prieto et autres a été employé pour évaluer la capacité réductrice des extraitsde gland de chêne. Cette méthode est basée sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V) en présence de l'antioxydant.

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

#### b) Mode opératoire :

0,3 ml de chaque extrait dilué est ajouté à 3 ml de la solution de réactif phosphomolybdique contenant le Molybdate d'ammonium (4 M), phosphate de sodium (28 mM) et l'acide sulfurique (0,6 M) préparé dans l'eau distillée. Le mélange a été placé dans un bain marie à une température 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement à une température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 695 nm contre un blanc contenant 0,3 ml d'éthanol mélangé avec 3 ml de réactif Phosphomolybdique. Prieto, P.,1999).

Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C, Les résultats sont exprimés comme (mole de vitamine C) par g et la capacité réductrice exprimés en tant qu'équivalent de la vitamine C.



**Figure 15 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

#### II.2.2.4. Pouvoir réducteur du fer (*Ferric reducing antioxidant power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par **Oyaizu , (1986)**., basée sur la réaction chimique de réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en  $\text{Fe}^{2+}$ . La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm.

Cette méthode consiste à mélanger 1 ml de l'extrait à différentes concentrations avec 2,5 ml de tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 2.5 ml d'une solution de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 minutes à 50°C, puis 2.5 ml d'acide trichloracétique ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) à 10% sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 mn à température ambiante et 2.5 ml du surnageant est additionné de 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0.1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc ou l'extrait est remplacé par le tampon d'extraction (**Pan et al., 2008**)

The background features two clusters of light green, semi-transparent leaves. One cluster is on the left and one is on the right, both positioned behind the main text. The leaves are arranged in a way that they appear to be part of a larger plant, with some leaves overlapping the text.

# **CHAPITRE III**

## **Resultat et discussion**

### III.1 Teneurs en composés phénoliques totaux

La détermination des teneurs en phénols totaux dans les deux extraits d'*Aquilaria malaccensis* et *Saussurea costus* ont été faite en utilisant séparément les méthodes colorimétriques (Folin-Ciocalteu) . La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique/g d'extrait sec.

Les résultats des dosages ont révélé des teneurs élevées en composés phénoliques pour les deux extraits étudiés. L'extrait de *Saussurea costus* présente une teneur en composés phénoliques totaux de  $154,411 \pm 40,649$  mg EAG/g d'extrait sec

Quant à L'extrait d'*Aquilaria malaccensis*, la teneur est de  $151,203 \pm 14,179$  mg EAG/g d'extrait sec , comme le montre le tableau 05:

**Tableau 5 :** Teneurs en composés phénoliques totaux

Les extraits	Teneurs en phénols totaux (mg EAG/g d'extrait sec)
Extrait éthanolique des racines de <i>S. costus</i>	$154,411 \pm 40,649$
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	$151,203 \pm 14,179$

En effet, **BOUHAOUS. 2022** ont travaillé sur l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* et ont estimé la teneur totale en composés phénoliques  $239,23 \pm 9,65$  mg EAG/g

Le stress environnemental, la sécheresse, la carence en éléments nutritifs du sol et la forte lumière du soleil peuvent contribuer à l'augmentation des niveaux de production de composés phénoliques chez certaines plantes (**Timmermann et al. 1984**), y compris les stimulants biotiques et abiotiques qui régulent la biosynthèse des métabolites secondaires. Les plantes de la même espèce qui poussent dans des environnements différents peuvent avoir différentes concentrations de métabolites secondaires (**Radušienė et al. 2012**)

### III.2 Teneurs en flavonoïdes

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1 . Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode au chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) en utilisant la rutine comme étalon. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalent équivalent de rutine /g d'extrait sec.

Tableau 6: Teneurs en flavonoïdes

Les extraits	Teneurs en flavonoïdes (mg ER/g d'extrait sec)
Extrait éthanolique des racines <i>S. costus</i>	137,817 ± 10,825
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	131,256 ± 7,732

Les résultats de ce test révèlent que l'extrait de *Saussurea costus* semble contenir le taux le plus élevé en flavonoïdes avec une concentration de 137,817 ± 10,825 mg ER/g d'extrait sec tandis que l'extrait éthanolique d'*Aquilaria malaccensis* soit de 131,256 ± 7,732 mg ER/g d'extrait sec.

Une étude précédente de **BOUHAOUS. (2022)** ont observé que le meilleur teneur en flavonoïdes était obtenu est 35,78±4,91 µg EQ/g

Cette variabilité est due à plusieurs facteurs : les conditions de séchage (**Couto et al. 2012**), d'extraction en terme de méthode, temps, température, solvant, l'état et la provenance géographique (**Luthria, 2008 ; Kahouli, 2010 ; Rodriguez et al. 2012**).

### III.3 Activité antioxydante

#### – Test DPPH

Le piégeage des radicaux libres DPPH détermine le potentiel de l'échantillon testé, ce qui montre son efficacité, sa prévention, son mécanisme de piégeage et de réparation contre les dommages dans un système biologique (**Rashmika et al. 2012**). Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub>, et présentés dans le tableau 07:

Tableau 7: Valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues par le test DPPH

Les extraits	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Extrait éthanolique des racines de <i>S. costus</i>	0,0002 ± 7,65E <sup>-05</sup>
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	0,0010 ± 0,0001
Acide ascorbique	0,0011 ± 0,005
BHT	0,001269 ± 0,002
BHA	0,00785 ± 0,0004

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique de *Saussurea costus* possède une activité antioxydante exceptionnelle avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de  $0,0002 \pm 7,65E^{-05}$  mg/ml, et supérieur à celle des antioxydants standards comme l'acide ascorbique, le BHT ou le BHA.

L'extrait éthanolique des écorces d'*Aquilaria malaccensis*, avec une IC<sub>50</sub> de  $0,0010 \pm 0,0001$  mg/ml, présente également une bonne activité antioxydante, bien que légèrement moins marquée. Ces résultats indiquent que *Saussurea costus* est particulièrement efficace pour piéger les radicaux libres à très faibles concentrations, ce qui peut être attribué à la nature de ses composés phénoliques.

Les résultats de cette recherche de **BOUHAOUS. (2022)** ont montré que le pouvoir réducteur d'*Aquilaria malaccensis* (IC<sub>50</sub>= $5,71 \pm 1,39$  mg/ml)

Dans une étude antérieure (**Ridwanto et al., 2022**), l'extrait méthanolique des écorces d'*A. malaccensis* préparé par macération pendant 48h a montré une CI<sub>50</sub> de 0,094 mg/ml, indiquant une activité antioxydante moins efficace comparée à nos résultats. Cela suggère que les conditions de préparation des extraits peuvent influencer cette activité antioxydante.

Une autre étude (**Huda et al., 2009**) a rapporté une CI<sub>50</sub> de 0,0033 mg/ml pour un extrait méthanolique de feuilles d'*A. malaccensis* extraites par macération, démontrant une activité antioxydante beaucoup plus élevée que celle des écorces dans l'étude précédente (**Ridwanto et al., 2022**) et dans la nôtre. Cela suggère que les feuilles pourraient avoir une activité antioxydante supérieure aux écorces de cette plante.

D'après **Zhao . (2014)**, Les valeurs de DPPH des extraits aqueux et méthanolique de *Saussurea costus* sont  $47,85 \pm 0,49$  et  $29,74 \pm 2,63$   $\mu\text{mol}$  respectivement

#### – Test du phosphomolybdate

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est aussi utilisé pour déterminer la capacité antioxydante totale ; il est basé sur la réduction d'ions Mo<sup>6+</sup> en ions Mo<sup>5+</sup> par les antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, il y a formation d'un complexe phosphate-Mo<sup>5+</sup> de couleur verdâtre, en milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Prieto et al., 1999**) . Les valeurs VCEAC obtenues sont rapportées dans le tableau 08:

**Tableau 8** : Valeurs VCEAC mesurées par le test du phosphomolybdate

Les extraits	VCEAC (M)
Extrait éthanolique des racines de <i>S. costus</i>	0,087 ± 0,002
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	0,097 ± 0,012

Les résultats indiquent clairement que l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* et de *Saussurea costus* ont une capacité antioxydante faible pour réduire les ions Mo<sup>6+</sup> en ions Mo<sup>5+</sup>,

L'extrait d'*Aquilaria malaccensis* possède une valeur VCEAC de 0,097 ± 0,012 M, légèrement plus élevée que celle de *Saussurea costus* (0,087 ± 0,002 M).

D'autre part, les résultats ont été rapportés par **Hamidi, (2022)**. L'absorbance maximale de l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* est 3,882 pour la capacité antioxydante totale.

#### – Test ABTS

La méthode ABTS de réduction des radicaux et des cations est l'une des méthodes les plus largement utilisées pour déterminer la concentration de radicaux libres. En réagissant avec le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) forme le radical ABTS<sup>+</sup>. Couleur bleu (vert). L'ajout d'un antioxydant réduira ce phénomène. La couleur du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydant (**Zaabat et al. 2010**). Les résultats sont présentés dans le tableau 09:

**Tableau 9** : Valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues par le test ABTS

Les extraits	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Extrait éthanolique des racines de <i>S. costus</i>	0,009 ± 0,002
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	0,0065 ± 0,0003
TROLOX	0,004 ± 0,0002

En effet, l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* et de *Saussurea costus* ont une activité antioxydante qui varie de manière dose-dépendante, où la meilleure capacité de piégeage du l' ABTS<sup>+</sup> a été montrée par l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* (IC<sub>50</sub> de 0,0065 ± 0,0003 mg/ml), suivi par

l'extrait de *Saussurea costus* avec des valeurs  $IC_{50}$  ( $0,009 \pm 0,002$  mg/ml ), et se inférieur du standard TROLOX ( $IC_{50}$  de  $0,004 \pm 0,0002$  mg/ml )

Dans une étude antérieure sur l'activité de piégeage du radical ABTS, les extraits d'éthanol, d'acétate d'éthyle et d'hexane de feuilles d'*A. malaccensis* préparés par Soxhlet ont montré des valeurs de  $CI_{50}$  variables. L'extrait éthanolique a présenté l'activité antioxydante la plus élevée avec une valeur de  $CI_{50}$  de 0,066 mg/ml, tandis que l'extrait n-hexane a montré l'activité antioxydante la plus faible avec une valeur de  $CI_{50}$  de 0,267 mg/ml (Aprilliani et al., 2021). Ces valeurs indiquent une activité antioxydante moins efficace comparée à nos résultats. Ceci confirme la conclusion précédente concernant l'effet des solvants sur l'activité antiradicalaire.

Les résultats d'étude des tests de décoloration radicalaire des cations ABTS ont. Également exprimés en  $\mu$ mol Trolox Equivalents (ET)/g d'extrait végétal. L'extrait de résidu de racine de *costus* était le moins efficace en AOC ( $155,71 \mu$ mol TE/g d'extrait). (Zhao . 2014).

#### – Test FRAP

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou et al., 2001). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de  $Fe^{3+}$ /complexe Ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002).

**Tableau 10** : Valeurs VCEAC mesurées par le test FRAP

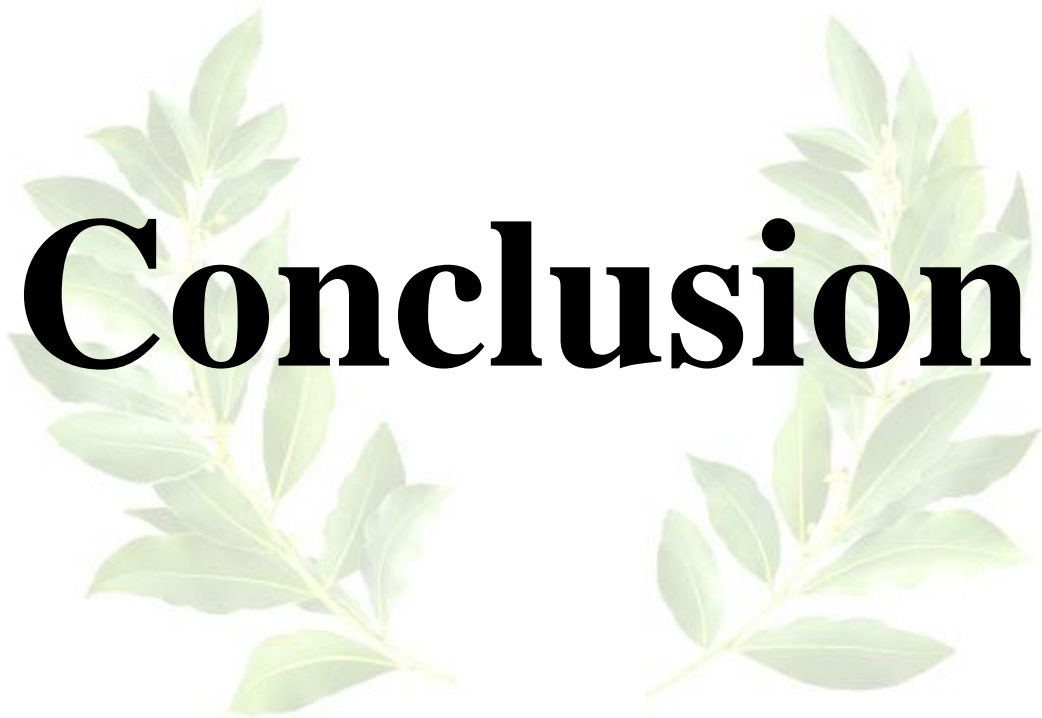
Les extraits	VCEAC (M)
Extrait éthanolique des racines de <i>S. costus</i>	$1,955 \pm 0,247$
Extrait éthanolique des écorces d' <i>A. malaccensis</i>	$2,449 \pm 0,448$

D'après les résultats, on n'observe que l'extrait éthanolique des écorces d'*A. malaccensis* présente la meilleure activité du pouvoir réducteur ( $2,449 \pm 0,448$  M ), suivie par l'extrait éthanolique des écorces d' *A. malaccensis* avec  $VCEAC=1,955 \pm 0,247$  M

Selon **Hamidi. (2022 )** l'absorbances maximales de l'extrait des écorces d' *A. malaccensis* 3,437 pour le pouvoir réducteur de fer

Pour Zhao (2014) . Dans le test FRAP de l'extrait de résidu de *S.costus*, sa valeur est (extrait de 561,85  $\mu\text{mol TE/g}$ ).

# Conclusion



Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à analyser l'extrait éthanolique de ces deux plantes ainsi qu'à évaluer leurs pouvoirs antioxydant. A l'issue de l'étude de l'activité antioxydante et du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, il apparaît que les plantes *Saussurea costus* et *Aquilaria malaccensis* est doté d'une activité antioxydante considérable avec une teneur élevée en polyphénols et flavonoïdes. Leur activité antioxydante est comparable ou meilleure que dans d'autres pays.

Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes dans les deux extraits sont très proches, la plante *Saussurea costus* a teneur de l'ordre de  $154,411 \pm 40,649$  mg EAG/g d'extrait sec et de l'ordre de  $137,817 \pm 10,825$  mg ER/g d'extrait sec respectivement, la plante *Aquilaria malaccensis* a teneur de l'ordre de  $151,203 \pm 14,179$  mg EAG/g d'extrait sec et de l'ordre de  $131,256 \pm 7,732$  mg ER/g d'extrait sec respectivement

Les résultats obtenus à travers différents tests (DPPH, ABTS, phosphomolybdate et FRAP) ont révélé des profils complémentaires. *Saussurea costus* s'est distinguée par une activité antiradicalaire exceptionnelle dans le test DPPH, surpassant même les antioxydants de référence. En revanche, *Aquilaria malaccensis* a montré une supériorité dans les tests du phosphomolybdate, de l'ABTS et du FRAP, suggérant un pouvoir réducteur global plus élevé.

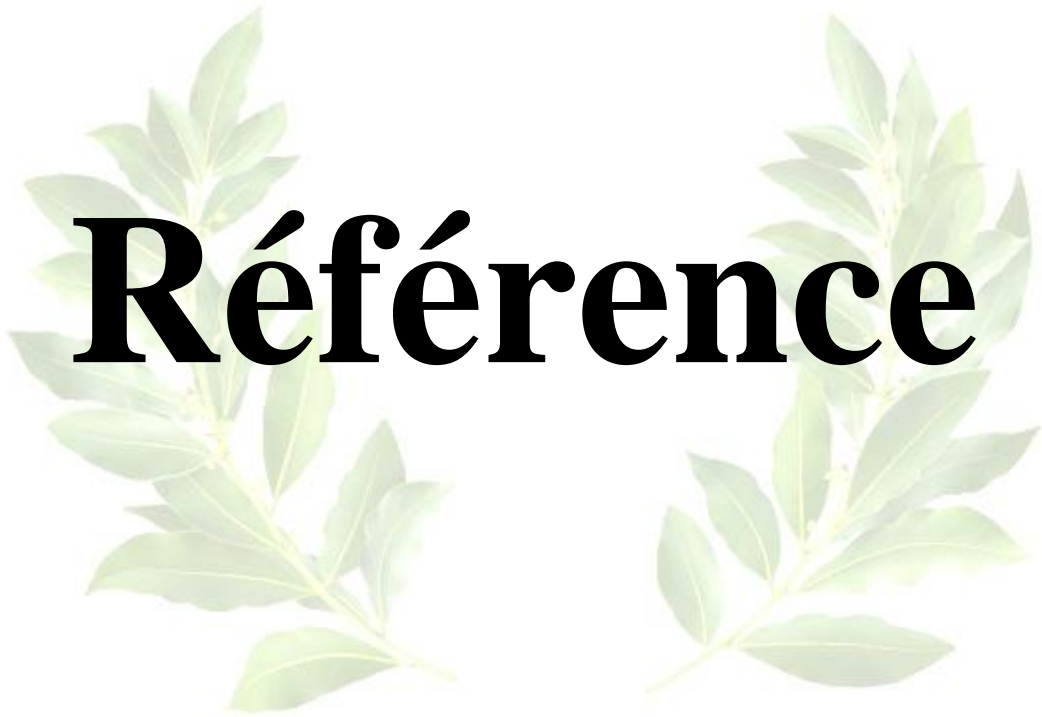
Il existe une corrélation entre les activités antioxydantes et la teneur totale en phénols, et avec la teneur totale en flavonoïdes. Ceci est attribué au fait que les polyphénols sont des composés qui présentent des propriétés redox conduisant à l'inhibition des radicaux libres.

Cette complémentarité dans les mécanismes d'action antioxydants souligne l'intérêt pharmacologique des deux espèces. Tandis que *Saussurea costus* est particulièrement efficace pour neutraliser rapidement les radicaux libres, *Aquilaria malaccensis* présente une efficacité remarquable dans la réduction d'agents oxydants et dans les environnements hydrophiles.

Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel de deux plantes étudiées et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Ils sont encourageants mais ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances biologiquement actives. Il serait par conséquent intéressant de continuer cette étude dans le but :

- d'isoler les molécules responsables des différentes activités biologiques de ces plantes, afin de détecter leurs modes d'action et les interactions éventuelles entre elles et de confirmer ou d'infirmer les activités attribuées à ces plantes ;
- d'étudier la toxicité des molécules purifiées sur différents modèles biologiques, afin de prévenir tout effet secondaire indésirable ;
- d'élargir le panel des tests biologiques afin de mettre en évidence d'autres activités anticancéreuse, antidiabétique, anti-inflammatoire ou autres.

# Référence



## Référence

---

### -A-

- **Ahmad, R., Okugawa, M., Yamamoto, T., & Doi, M.** (2016). Production and trade of agarwood in Southeast Asia: Trends and prospects. *International Journal of Forestry Research*, 2016,
- **Al-Mamun, A., Khan, M. R., & Hossain, M. S.** (2007). The role of superoxide anion in oxidative stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(3), 272–280.

### -B-

- **Belkheiri, A.** (2010). Les stilbènes: Propriétés chimiques et biologiques. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- **Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales (2e éd.). Paris: Lavoisier-Tec & Doc
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. et Pinkas, M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, Vol. (46); 1086-1089.
- **Bassene, E.** (2012). Initiation à la recherche sur les substances naturelles : Extraction-Analyse-Essais Biologiques. Presses Universitaires de Dakar.
- **Boizot, N. et Charpentier, P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, pp : 79-82.
- **Bouhamdi, A.** (2012). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de *Pergularia tomentosa* L. de la région d'Adrar. Mémoire de Master en Biochimie appliqué. Université Abou-Bekr Belkaid. Tlemcen, pp : 57- 42.
- **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I.,** (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis* I. *Food chemistry*, 104: 1487-1484.
- **BOUHAOUS ,Latifa** . (2022). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques plantes Utilisées contre le cancer dans la phytothérapie traditionnelle en Algérie ;
- Thèse de Doctorat en Sciences . UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET

## Référence

---

### -C-

- **Couto, R. M., Fernandes, J., & Simões, P. C.** (2012). Effect of drying and extraction methods on the antioxidant activity of medicinal plants: A review. *Food Chemistry*, **131**(1), 232–240.
- **Chen, et al.** (2012). Chemical constituents of agarwood originating from the endemic genus *Aquilaria* plants. *Chemistry & Biodiversity*, *9*(2), 236-250.
- **Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N.** (2006). Phenols, polyphenols and tannins

### -D-

- **Delgado, M. E., Haza, A. I., García, A., & Morales, P.** (2004). Myricetin and quercetin protect against oxidative DNA damage induced by tert-butyl hydroperoxide in human hepatoma cells. *Food and Chemical Toxicology*, *42*(9), 1459–1466.

### -F-

- **Fettah, A. (2019).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium Polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider Biskra, 87p.

### -E-

- **Evans, R. M.** (2000). The role of vitamin C in maintaining epithelial integrity and its influence on the antioxidant defense system. *Nutrition Research Reviews*, *13*(1), 117–128.

### -H-

**Hamidi Hadjira , (2022 ) .** Activité antioxydante, *Aquilaria malaccensis*, Composés phénoliques, Criblage phytochimique, Métabolites secondaires.

- **Huda, F., Hossain, M. K., & Rahman, M. A.** (2009). Agarwood plantation at BRAC Tea Estate: A new dimension of economic return. *Journal of Forestry Research*, *20*(2), 161–166.
- **Hinneburg, A., & Keim, D. A. (1998).** An efficient approach to clustering in large multimediate databases with noise (Vol. 98, pp. 58-65). Bibliothek der Universität Konstanz.
- **Huda A.W.N (2009).** Antioxidant activity of *aquilaria malaccensis* (thymelaeaceae) leaves Vol 1, Issue 5, Sep-Oct, 2009.

### -I-

## Référence

---

- **Iserin P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2 ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225 226.
- **Ichai, C., & Payen, J. F. (2010).** Stress oxydant et pathologies associées. *Revue de Médecine Interne*, 31(6), 393–400

### -J-

- **Jacques, S., & André, P. (2004).** Radical libres et stress oxydatif. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2004(362), 29–36.
- **Jean-Denis, J. B. (2005).** *Structure, solubilité et fonctions biologiques des polyphénols.* *Revue Francophone des Laboratoires*, 2005(374), 45–51.

### -K-

- **Kahouli, I. (2010).** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée. □
- **Khalil, A. S (2013).** Characterization of methanolic extracts of agarwood leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences*, 1(3), 78-88.
- **Knecht, D. A. (2010).** Cucurbitacin I inhibits cell motility by indirectly interfering with actin dynamics. *PLoS ONE*, 5(11), e14039.
- **Knecht, D. A., LaFleur, R. A., Kahsai, A. W., Argueta, C. E., Beshir, A. B., & Fenteany, G. (2010).** Cucurbitacin I inhibits cell motility by indirectly interfering with actin dynamics. *PLoS ONE*, 5(11), e14039.
- **Kalili, G., & de Villiers, A. (2011).** *Antioxidant properties of polyphenolic compounds: A review of methods and mechanisms.* *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(4), 785–793.
- **Koechlin, N. (2006).** Rôle des espèces réactives de l'oxygène dans les mécanismes cellulaires. *Biochimie*, 88(9), 1193–1201.
- **Kulsoom, S., Jahan, N., & Ahmad, S. (2014).** *Saussurea lappa: A medicinal plant with numerous pharmacological properties.* *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(7), 2600–2606.

### -L-

## Référence

---

- **Luthria, D. L.** (2008). Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food Chemistry*, **107**, 745–752.
- **Luthria, D. L.** (2008). Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food chemistry*, *107*(2), 745-752.□
- **Lacolley, P.** (2007). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : mécanismes et conséquences pathophysiologiques. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, *56*(3), 139–148
- **Lee, S. Y., Mohamed, R., & Lamasudin, D. U.** (2013). Aquilaria species: Botany, uses and potential. In: *Agarwood: Science Behind the Fragrance*. Singapore: Springer.
- **Leti, M., Siti, M. S., & Latiff, A.** (2013). A taxonomic revision of *Aquilaria* (Thymelaeaceae) in Peninsular Malaysia. *Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, *58*(1), 41–47
- **Lim, T. K., & Noorainie, A. A. R.** (2010). Review of trade in agarwood (Gaharu) in Malaysia. *TRAFFIC Southeast Asia*.

### -R-

- **Radušienė, J., Karpavičienė, B., & Stanius, Ž.** (2012). Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's wort. *Botanica Lithuanica*, *18*(2), 101-108.
- **Ridwanto, Trizaldi, A., Rani, Z., Daulay, A. S., Nasution, H. M., & Miswanda, D.** (2022). Antioxidant activity test of methanol extract of Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) bark with DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. *International Journal of Health and Pharmaceutical*, 232.
- **Redrejo-Rodriguez, M., et al.**, Lipoxygenase inhibition by flavonoids: semiempirical study of the structure–activity relation. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 2004. *674*(1): p. 121-124.
- **Rashmika, P. S., Shilpa, K., & Avinash, K. R.** (2012). In vitro antioxidant activity of stem bark extract of *Erythrina indica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *5*(2), 162–165.

### -T-

## Référence

---

- **Timmermann, B. N., & Steelink, C.** (1984). Introductory chapter. In *Phytochemical Adaptations to Stress* (pp. 1-6). Springer, Boston, MA.

### -M-

- **Martinez, M. C.** (1995). Radicaux libres : chimie et biologie. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, 77(2), 179–187.
- **Mitra, R., Orbell, J., & Muralitharan, M. S.** (2007). Medicinal plants of Malaysia. *Asia-Pacific Biotech News*, 11(2), 105-110.
- **Madhuri, S., Pandey, G., & Verma, K. S.** (2011). Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(2), 195–200
- **Mompon, C., & al.**(1998). *Les polyphénols dans les plantes: Diversité, fonctions et importance biologique*. *Revue des Sciences Naturelles*, 15(2), 45–56.
- **Morena, M., Delanoë, C., & Véricel, E.** (2002). Dysfonctionnements oxydatifs et pathologies humaines. *Médecine/Sciences*, 18(9), 845–852.

### -P-

- **Prieto, P, Pineda, M, Aguilar, M.:** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*, 1999, 269, 337-341.
- **Pandey, A., Simons, S., & Ved, D. K.** (2006). *Prioritizing medicinal plants for conservation: A case study from the Indian Himalaya*. *Ethnobotany Research & Applications*, 4, 25–36
- **Pincemail, J., Kevers, C., & Defraigne, J. O.** (1999). Stress oxydatif : mécanismes et implications cliniques. *Revue Médicale de Bruxelles*, 20(5), 413–419.
- **Plantes, B.** (2011). *Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparation, utilisation*. Paris: Éditions Larousse.

### -S-

- **Säidana, D., Mahjoub, S., Boussaada, O., Chriaa, J., Mahjoub, M. A., Chéraif, I., ... Helal, A. N.** (2008). Antibacterial and antifungal activities of the essential oils of two
- **Singleton, A., Vernon, L., Rudol, O., Rosa, M. , Lamuel, R.** (1974). Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of folincioalteau. *Methodes in enzymologie*, 299; 152-178.

## Référence

---

- **Sampson, B. J.** (2017). Leaf morphology and nutrient deficiency indicators in forest trees. *Forest Botany Research Journal*, 5(2), 101–110.
- **Shiou, Y. C., & Rozi, M. S.** (2016). Distribution and conservation status of *Aquilaria* species in Southeast Asia. *Journal of Tropical Forest Science*, 28(1), 1–10.
- **Shiou, Y. C., & Rozi, M. S.** (2016). Distribution and conservation status of *Aquilaria* species in Southeast Asia. *Journal of Tropical Forest Science*, 28(1), 1–10.

-V-

- **Venugopal, N., & Estre, J. L.** (2015). Floral morphology and reproductive biology of *Aquilaria malaccensis*. *International Journal of Plant Reproductive Biology*, 7(2), 125–132.

-Z-

- **Zaabat, N., Akkal, S., Darboure, N., Laouer, H., Franca, M. G., & Duddeck, H.** (2010). Secondary metabolites of an Algerian *Phlomis bovei* and their antioxidant activities. *Chemistry of natural compounds*, 46(3), 454-455. □
- **Zhao, T.** (2014). *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques et médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et de Chongqing (Chine)* (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).
- **Zekhnini A. and Hatimi A.** (2015). Antifungal and Antioxidant Activities of Some Aromatic and Medicinal Plants from the Southwest of Morocco. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7) : 672-678.



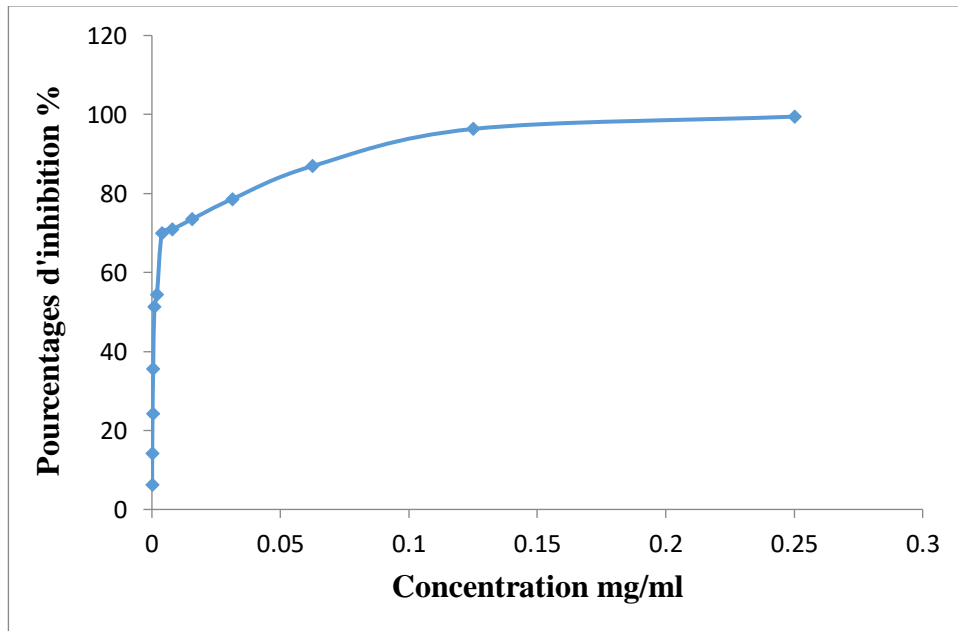
# ANNEXE

## Annexe

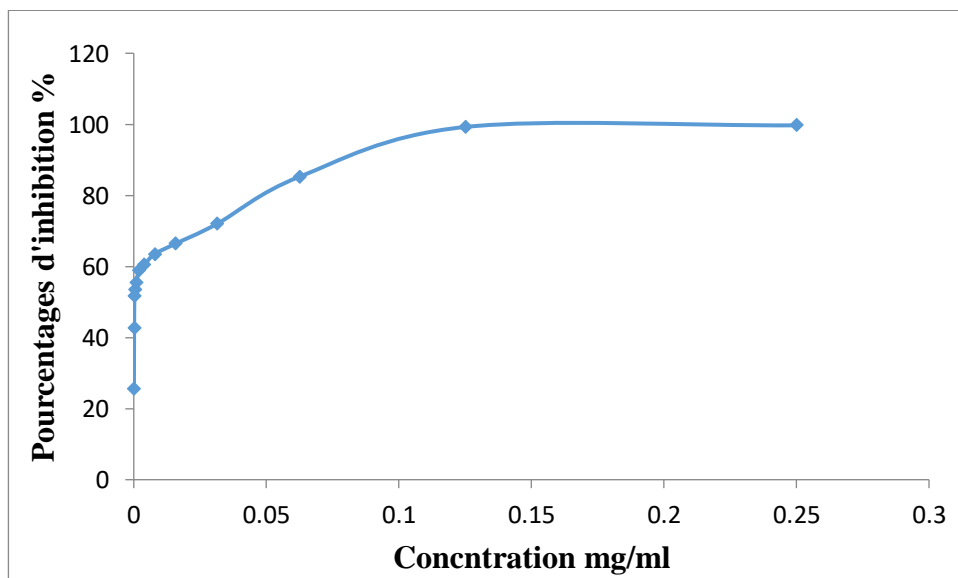
---

### Test de DPPH :

#### Extrait de *A Malaccensis* :



#### Extrait de *S costus* :

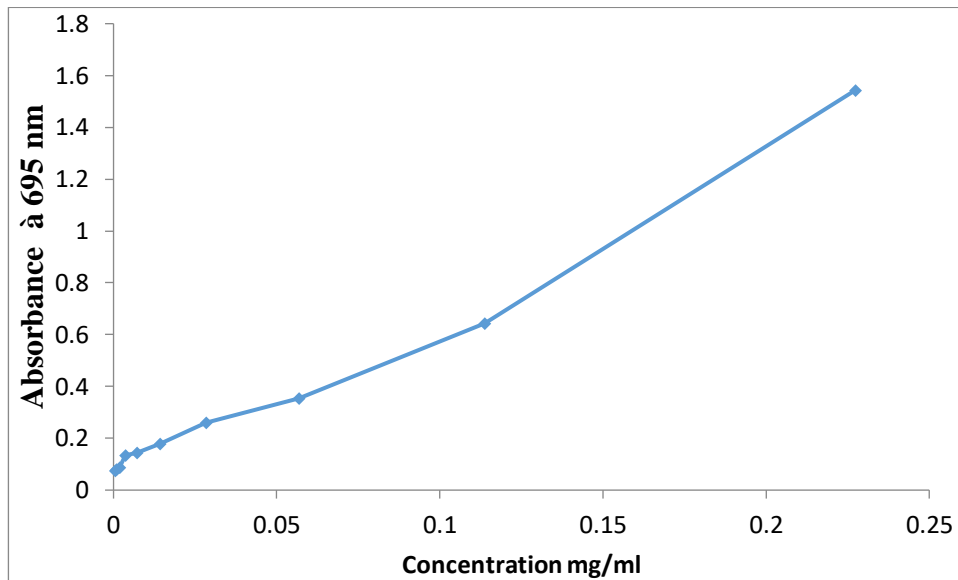


## Annexe

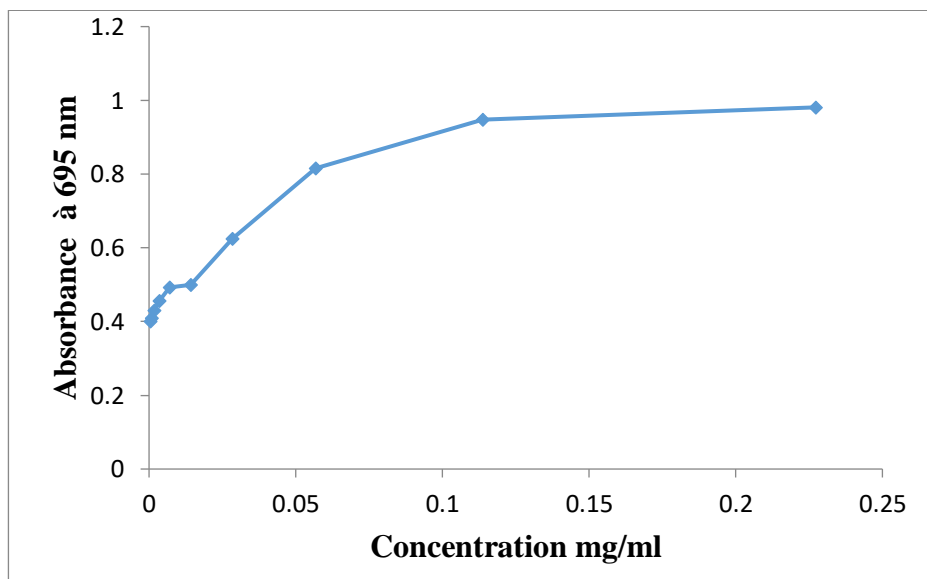
---

### ✚ Test de molybdate :

#### Extrait de *A Malaccensis* :



#### Extrait de *S costus* :

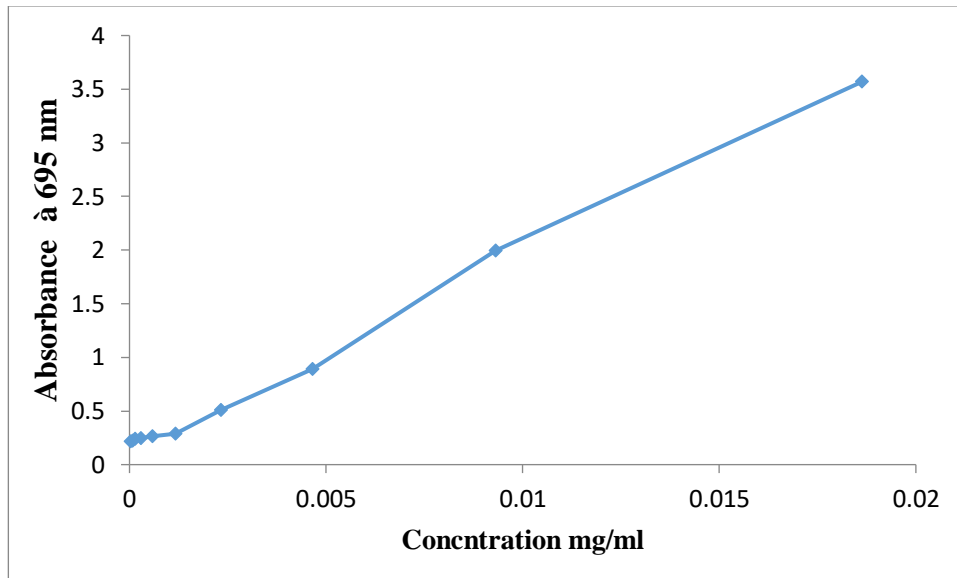


## Annexe

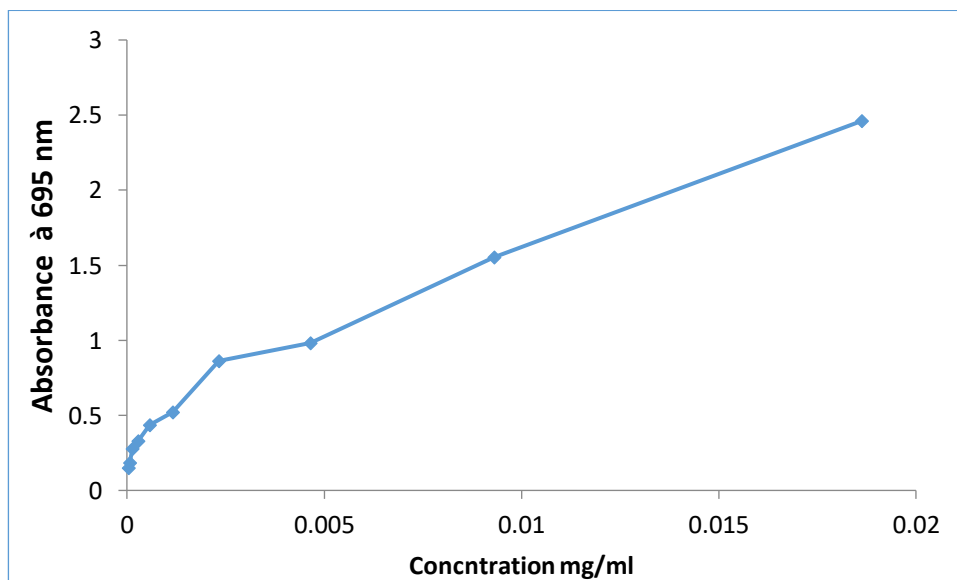
---

### Test de FRAP

Extrait de *A Malaccensis* :



Extrait de *S costus* :

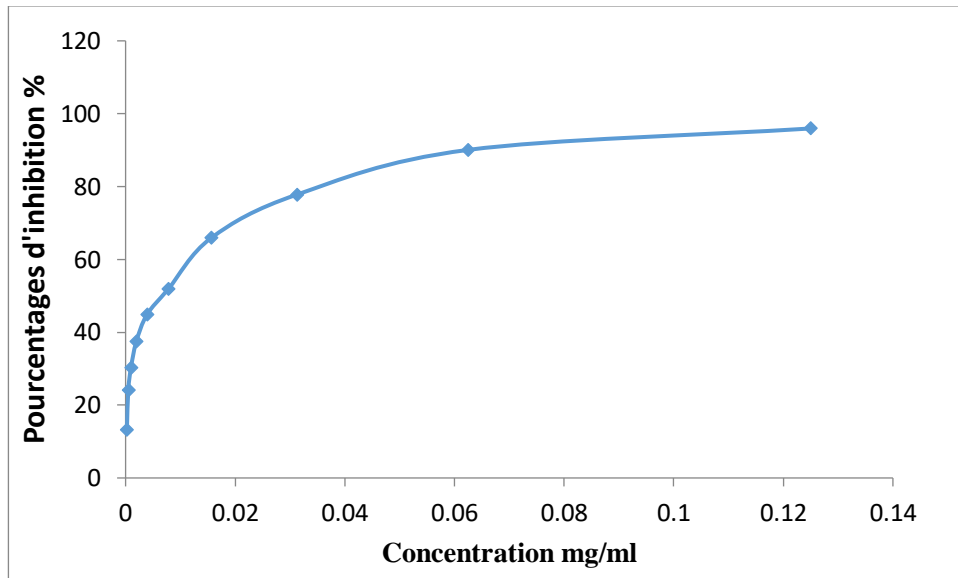


## Annexe

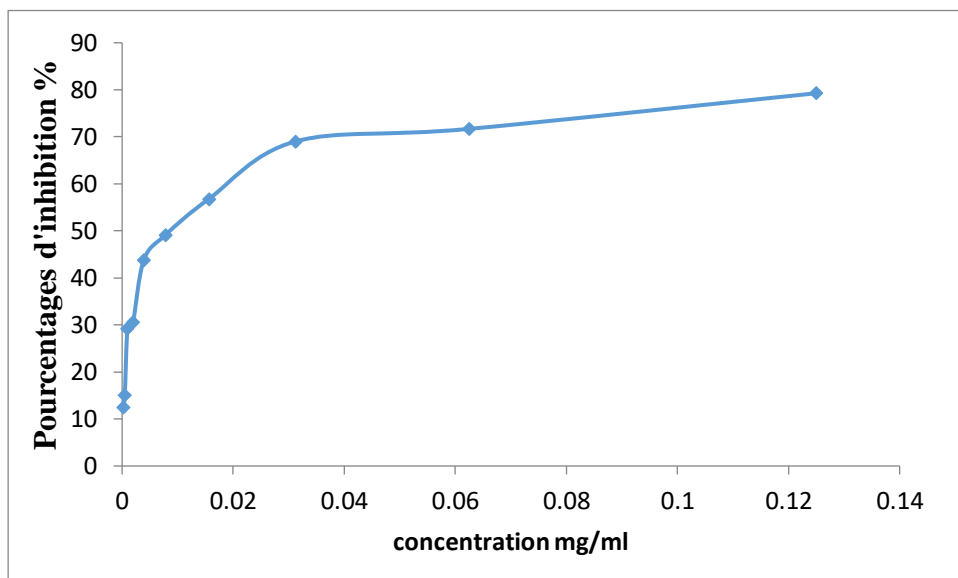
---

### Test de ABTS :

#### Extrait de *A Malaccensis* :



#### Extrait de *S costus* :



عنوان المذكرة: دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية عود الهندي و جذور القسط الهندي  
اللقب: مشيكل  
الإسم: عبد السلام  
المؤطر: قنان هجيرة  
طاهر  
دناقة

**ملخص:** تهدف هذه الدراسة إلى تحليل المستخلصات الإيثانولية لعود الهندي و جذور القسط الهندي وتقييم نشاطهما المضاد للأكسدة. أظهرت التحاليل الكمية محتوى عالٍ ومتشابه نسبيًا من المركبات الفينولية والفلافونيدات، حيث بلغ تركيز جذور القسط حوالي  $40.649 \pm 154.411$  ملغ مكافئ حمض الغاليك/ غرام مستخلص و  $10.825 \pm 137.817$  ملغ مكافئ روتين/غم مستخلص، في حين بلغ تركيز العود الهندي حوالي  $14.179 \pm 151.203$  ملغ مكافئ حمض الغاليك/غم و  $7.732 \pm 131.256$  ملغ مكافئ روتين/غرام على التوالي. أبرزت اختبارات مضادات الأكسدة التي أجريت (DPPH و ABTS و لفسوموليبيدات و FRAP) تباينًا تكامليًا بين النوعين. تميزت جذور القسط بنشاط مضاد للجذور ملحوظ في اختبار DPPH، متفوقة على مضادات الأكسدة المرجعية، في حين أظهر العود الهندي فعالية متفوقة في اختبارات ABTS و FRAP و الفوسوموليبيدات، مما يشير إلى قوة اختزال إجمالية أعلى، خاصة في البيئات المحبة للماء. وتؤكد هذه النتائج وجود ارتباط إيجابي بين نشاط مضادات الأكسدة ومحتوى البوليفينول والفلافونويد، مما يسلب الضوء على الدور المركزي لهذه المركبات في تحييد الجذور الحرة. إن التكامل الملحوظ في آليات عمل النباتين يعزز أهميتهما الدوائية: حيث يعمل القسط الهندي بشكل فعال على الجذور الحرة غير المستقرة، في حين يتميز عود الهندي بقدرته على تقليل العوامل المؤكسدة. وتوفر هذه النتائج مبررًا علميًا للاستخدام التقليدي لهذين النوعين الطبيين، في حين تشكل أساسًا مشجعًا لمزيد من الأبحاث المتعمقة.

**كلمات مفتاحية:** عود الهندي، جذور القسط الهندي، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة.

**Memory title :** Study of the antioxidant activity of phenolic extracts of *Aquilaria malaccensis* and *Saussurea costus*

**Name:** Abdessalaame . **First name:** Mechikel . **Directed by:** H .Guennane  
Taher Dennaka

**Abstract :** This study focuses on the analysis of ethanolic extracts of *Saussurea costus* and *Aquilaria malaccensis*, with a comparative evaluation of their antioxidant activity. Quantitative assays revealed high and relatively similar levels of total phenolic compounds and flavonoids: *S. costus* presents  $154.411 \pm 40.649$  mg EAG/g E and  $137.817 \pm 10.825$  mg ER/g E, respectively, while *A. malaccensis* displays  $151.203 \pm 14.179$  mg EAG/g E and  $131.256 \pm 7.732$  mg ER/g E. The antioxidant tests carried out (DPPH, ABTS, phosphomolybdate and FRAP) highlighted complementary profiles between the two species. *S. costus* stood out for its remarkable antiradical activity in the DPPH test, outperforming the reference antioxidants, while *A. malaccensis* demonstrated superior efficacy in the ABTS, FRAP and phosphomolybdate tests, suggesting a higher overall reducing power, especially in hydrophilic media. These results confirm a positive correlation between antioxidant activity and polyphenol and flavonoid contents, highlighting the central role of these compounds in neutralizing free radicals. The complementarity observed in the mechanisms of action of the two plants reinforces their pharmacological interest: *S. costus* acts effectively on unstable free radicals, while *A. malaccensis* stands out for its ability to reduce oxidizing agents. These results provide a scientific justification for the traditional use of these two medicinal species, while constituting an encouraging basis for further in-depth research.

**Key words :** *Saussurea costus*, *Aquilaria malaccensis*, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante

**Titre du mémoire:** Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques d'*Aquilaria malaccensis* et *Saussurea costus*

**Nom :** Abdessalaame . **Prénom :** Mechikel . **Encadreur :** H .Guennane  
Taher Dennaka

**Résumé :** Cette étude porte sur l'analyse des extraits éthanoliques de *Saussurea costus* et *Aquilaria malaccensis*, avec une évaluation comparative de leur activité antioxydante. Les dosages quantitatifs ont révélé des teneurs élevées et relativement proches en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes : *S. costus* présente respectivement  $154,411 \pm 40,649$  mg EAG/g E et  $137,817 \pm 10,825$  mg ER/g E, tandis que *A. malaccensis* affiche  $151,203 \pm 14,179$  mg EAG/g E et  $131,256 \pm 7,732$  mg ER/g E. Les essais antioxydants réalisés (DPPH, ABTS, phosphomolybdate et FRAP) ont mis en évidence des profils complémentaires entre les deux espèces. *S. costus* s'est distinguée par une activité antiradicalaire remarquable dans le test DPPH, surpassant les antioxydants de référence, tandis que *A. malaccensis* a démontré une efficacité supérieure dans les tests ABTS, FRAP et phosphomolybdate, suggérant un pouvoir réducteur global plus élevé, notamment en milieu hydrophile. Ces résultats confirment une corrélation positive entre l'activité antioxydante et les teneurs en polyphénols et flavonoïdes, soulignant le rôle central de ces composés dans la neutralisation des radicaux libres. La complémentarité observée dans les mécanismes d'action des deux plantes renforce leur intérêt pharmacologique : *S. costus* agit efficacement sur les radicaux libres instables, tandis que *A. malaccensis* se distingue par sa capacité à réduire les agents oxydants. Ces résultats apportent une justification scientifique à l'usage traditionnel de ces deux espèces médicinales, tout en constituant une base encourageante pour la poursuite de recherches approfondies.

**Mots clés :** *Saussurea costus*, *Aquilaria malaccensis*, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante,

