

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar Téliidji 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 de Master en Biologie  
Option : Biochimie des produits naturels

*Thème :*

**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits  
bruts de deux plantes médicinales utilisées par la  
population de *Ghardaïa***

Présenté par :

**M. DAHEUR Mohamed & M. HADJ SAID Bayoud**

Soutenu publiquement le : 11/06/2014 devant le jury composé :

Président :	<i>M. GACEM Mohamed amine</i>	MAB	Université Laghouat
Examineur :	<i>M. BOUKAROUI Djoudi</i>	MAA	Université Laghouat
Promoteur :	<i>M. SIFI Ibrahim</i>	MAA	Université Laghouat

JUIN 2014

# Remerciement

*Avant d'entamer la présentation de notre mémoire*

*On remercie en premier lieu Allah le tout puissant de nous avoir accordé la puissance et la volonté pour terminer ce travail.*

*Merci à nos parents pour nous avoir apporté support et soutien pendant nos études.*

*Nos sincères remerciements sont exprimés agréablement à notre encadreur **M. SIFI Ibrahim** pour avoir accepté de nous encadrer durant notre stage et d'avoir été patient et compréhensif.*

*Nous remercions vivement **M. GACEM Mohammed amine** **M. BOUKEROUIS Djoudi** d'avoir examiné notre mémoire*

*Nous remercions vivement **M. CHAIBI Rachid** chef de département de biologie d' l'université de Laghouat.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et nos remerciements à toutes les personnes qui nous ont aidés et qui ont contribué à la réalisation de cette étude lors de stages au laboratoire.*

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

## الملخص

يهدف هذا العمل لدراسة المركبات الفينولية والفلافونويدية مع تقييم نشاطها المضاد للأكسدة للنباتات *Asphodelus tenuifolius* و *Marrubium deserti* والمقتطف من منطقة غرداية (العطف). أظهرت نتائج النقع باستعمال مذيبات عضوية ذات قطبية متصاعدة (DCM, HEX) مردودية عالية لكل من نبات *Marrubium deserti* تتراوح بين (3.59% و 4.49% على التوالي)، و لنبات *Asphodelus tenuifolius* (2.36% و 2.59% على التوالي) في حين أن أدنى معدل الاستخلاص للمستخلص (AcET, ACT) لنبات *Marrubium deserti* (1.25% و 0.65% على التوالي) و للمستخلص نبات *Asphodelus tenuifolius* (0.43% و 0.57% على التوالي).

إن محتوى المركبات الفينولية المقاس باستخدام كاشف *Folin-Ciocalteu* تراوح ما بين (52,14 الى 106,05 ملغ مكافئ/غ) بالنسبة لنبات *Marrubium deserti* و (14,16 ملغ الى 98,51 ملغ مكافئ/غ) بالنسبة لنبات *Asphodelus tenuifolius* تحتوي الفلافونويدات المكافئ للكيرسيتين هي في حدود 4.73 ملغ/غ لمستخلص نبات *Marrubium deserti* و 2.50 ملغ مكافئ/غ لمستخلص نبات *Asphodelus tenuifolius*.

أظهر النشاط المضاد للأكسدة لاختبار تثبيط الجذر الحر DPPH و إرجاع الحديد FRAP، لمستخلصات (ACT)، لكل من نبات *Marrubium deserti* و *Asphodelus tenuifolius* فعالية جد كبيرة، حيث قيمة  $EC_{50}$  كانت 34.53 ميكروغرام/مل و 48.36 ميكروغرام/مل على التوالي.

أما بالنسبة لاختبار إرجاع الحديد فكانت قيم TEAC لمستخلص (ACT) لنبات *Marrubium deserti* 209.66 غ أي ما يعادل ملغ واحد من Trolox، وللمستخلص (ACT) لنبات *Asphodelus tenuifolius* 64.266 غ أي ما يعادل ملغ واحد من Trolox

## الكلمات المفتاحية:

المركبات الفينولية، الفلافونويد، نشاط المضاد للأكسدة، DPPH، FRAP، *Marrubium deserti*، *Asphodelus tenuifolius*

## Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques, flavonoïdes et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de deux (02) plantes médicinales *Asphodelus tenuifolius*, *Marrubium deserti* du Sud-Est Algérien : Ghardaïa (El-Atteuf).

Les résultats obtenus montrent que le rendement de la macération en différents solvants organiques à polarité croissante de ces plantes est plus élevé correspondant à ceux de l'extrait HEX et DCM de l'espèce *Marrubium deserti* (4,49 % et 3,59% respectivement) ; et même l'extrait HEX et DCM de l'espèce *Asphodelus tenuifolius* (2,59 % et 2,36 % respectivement). Tandis que le taux le plus faible de l'extrait AcET et ACT est celui de l'espèce *Marrubium deserti* (1,25 % et 0,65% respectivement) et l'extrait de l'espèce *Asphodelus tenuifolius* (0,43% et 0,57 % respectivement).

Les teneurs en phénols totaux mesurés à l'aide du réactif de *Folin-Ciocalteu* varient de 52,14 à 106,05 mg EAG/g de la plante *Marrubium deserti* et 14,16 à 98,51 mg EAG/g de la plante *Asphodelus tenuifolius*. Les teneurs en flavonoïdes exprimées en équivalent de quercétin sont de l'ordre de  $4,73 \pm 0,38$  mg EQ/g d'extrait de l'espèce *Marrubium deserti* et  $2,50 \pm 0,029$  mg EQ/g de résidus sec d'extrait de l'espèce *Asphodelus tenuifolius*.

D'après le test « DPPH » et « FRAP », l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits exprimée par l'EC<sub>50</sub> et l'indice TEAC respectivement, montre une activité plus élevée de la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon *M. deserti* et *A. tenuifolius* que celles des autres fractions, dont les valeurs d'EC<sub>50</sub> (DPPH) sont  $34,53 \pm 0,71$  µg/mL *M. deserti* et  $48,36 \pm 10,83$  µg/mL *A. tenuifolius*. Le test FRAP révèle des valeurs de TEAC hautement supérieures pour la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon *Marrubium deserti* ( $209,66 \pm 0,26$  mg Equivalent Trolox/g résidus sec) que la fraction d'acétone de l'échantillon *Asphodelus tenuifolius* ( $64,20 \pm 2,96$  mg Equivalent Trolox/g résidus sec).

### Mots clés :

Composé phénolique, Flavonoïdes, Activités antioxydantes, FRAP, DPPH, *Asphodelus tenuifolius*, *Marrubium deserti*.

## Abstract

Through the discovery of new antioxidants from natural sources, We are interested in this work to the study of phenolic and flavonoids compounds and their antioxidant properties from two medicinal plants “*Asphodelus tenuifolius*”, “*Marrubium deserti*” in the Ghardaïa (El Atteuf) region.

The results of the different maceration in organic solvent increasing polarity, show that a higher yield of the HEX and DCM extract for *Marrubium deserti* (4.49% and 3.59%) respectively, and HEX and DCM extract of *Asphodelus tenuifolius* (2.59 % and 2,36 % respectively). However, a lowest yield was shown of (AcET) and (ACT) extract of *Marrubium deserti* (1.25% and 0.65%), respectively, and *Asphodelus tenuifolius* (0.43 % and 0.57%) respectively.

The total phenolic compounds vary from 52.14 to 106.05 mg EAG/g of *Marrubium deserti* plant and from 14.16 to 98.51 mg EAG/g plant *Asphodelus tenuifolius*. The flavonoid content expressed as equivalent of quercetin are in the order of  $4.73 \pm 0.38$  mg EQ/g extract of *Marrubium deserti* specie; and  $2.50 \pm 0.029$  mg EQ/g of dry extract residues of *Asphodelus tenuifolius* specie.

According to DPPH and FRAP test, the values of  $EC_{50}$  was shows a higher activity of acetone (ACT) fraction of *M. deserti* and *Asphodelus tenuifolius* than other fractions with  $EC_{50}$  values (DPPH) were  $34.53 \pm 0.71$   $\mu$ g/mL (*M. deserti*) and  $48.36 \pm 10.83$  mg / mL (*Asphodelus tenuifolius*). The TEAC values of FRAP test was a highly superior for the acetone (ACT) fraction (*Marrubium deserti* :  $209.66 \pm 0.26$  mg Equivalent Trolox/g dry residue and *Asphodelus tenuifolius*:  $64.20 \pm 2.96$  mg Trolox Equivalent/g dry residue).

### Key words:

Phenolic, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP, *Asphodelus tenuifolius*, *Marrubium deserti*

## Liste des abréviations

<b>Abs:</b>	Absorbance.
<b>ABTS:</b>	2, 2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6- acide sulfonique.
<b>ADN / DNA:</b>	Acide désoxynucléique/ desoxynucleic acide.
<b>ACT :</b>	Acétone
<b>AcET :</b>	Acétate d'éthyle
<b>AlCl<sub>3</sub>:</b>	Trichlorure d'Aluminium.
<b>AT :</b>	<i>Asphodelus tenuifolius</i>
<b>MeOH :</b>	Méthanol
<b>COX1, COX2:</b>	Cyclooxygénase 1 et 2.
<b>DPPH :</b>	2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl
<b>DCM :</b>	Dichlorométhane
<b>EAG:</b>	Equivalent acide gallique.
<b>ER:</b>	Equivalent rutine.
<b>ERO:</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène.
<b>ERON :</b>	Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.
<b>FRAP:</b>	Ferric Reducing/Antioxidant Power.
<b>GSH :</b>	Glutathion réduit
<b>GPx :</b>	Glutathion peroxydase
<b>GN :</b>	Gélose Nutritive
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b>	Peroxyde d'hydrogène.
<b>HOCl:</b>	Acide hypochlorure.
<b>HEX :</b>	Hexane
<b>HCl :</b>	Acide chlorhydrique
<b>EC<sub>50</sub>:</b>	Concentration à 50% d'inhibition.
<b>LDL:</b>	Low Density Lipoprotein.
<b>MD :</b>	<i>Maruubium deserti</i>
<b>MVA:</b>	Voie de Mévalonate.
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b>	Bicarbonates de sodium
<b>NO• :</b>	Monoxyde d'azote
<b>O<sub>2</sub>• :</b>	Oxygène singulet
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup>:</b>	Anion Superoxyde.
<b>OH•:</b>	Radical hydroxyle.
<b>OMS:</b>	Organisation Mondiale de la Sante.
<b>ONOO<sup>-</sup> :</b>	Peroxynitrite.
<b>ORAC:</b>	Oxygen Radical Absorbance Capacity.
<b>PAL :</b>	phénylalanine ammonia-lyase
<b>RCOO•:</b>	Peroxyde
<b>RO•, R•, R-S•:</b>	Radicaux organiques.
<b>SDS :</b>	Sodium dodecyl sulfate
<b>TEAC:</b>	Trolox Equivalent Antioxydant Capacity.

## Liste des tableaux

<b>TABLEAU 1 : STRUCTURE DES SQUELETTES DES POLYPHENOLS (CROZIER ET AL., 2006)</b> .....	9
<b>TABLEAU 2 : SITUATION GEOGRAPHIQUE DES STATIONS DE RECOLTE</b> .....	22
<b>TABLEAU 3 : RENDEMENT EN EXTRACTION DES COMPOSE PHENOLIQUE DE ET (AT) ET (MD)</b> .....	29
<b>TABLEAU 4 : TENEUR EN POLYPHENOLS TOTAUX DE DEUX PLANTES</b> .....	30
<b>TABLEAU 5 : TENEUR EN FLAVONOÏDES TOTAUX DE DEUX PLANTES (MD) ET (AT)</b> .....	31
<b>TABLEAU 6 : LES VALEURS EC50 DU TEST DPPH DES EXTRAITS DE PLANTE (MD ET AT)</b> .....	35
<b>TABLEAU 7 : LES VALEURS TEAC DU TEST FRAP DES EXTRAITS DE PLANTE (MD ET AT)</b> .....	36

## Liste des figures

<b>FIGURE 1 : PHOTO ASPHODELUS TENUIFOLIUS</b> .....	5
<b>FIGURE 2 : PHOTO ILLUSTRANT L'ESPECE MARRUBIUM DESERTI DE NOE</b> .....	7
<b>FIGURE 3 : BIOSYNTHESE DES COMPOSES PHENOLIQUES LE PLUS LARGEMENT DISTRIBUES PAR LA VOIE DE SHIKIMATE (CROZIER ET AL., 2006). PAL : PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE ; C4H : CINNAMATE4-HYDROXYLASE.</b> .....	8
<b>FIGURE 4 : STRUCTURE DU 2-PHENYLE CHROMANE</b> .....	10
<b>FIGURE 5 : STRUCTURE GENERALE DES FLAVONOÏDES</b> .....	10
<b>FIGURE 6 : STRUCTURES DES SQUELETTES DE BASE DES FLAVONOÏDES (HAVSTEEN, 2002)</b> .....	11
<b>FIGURE 7 : STRUCTURE DES ANTHOCYANOSIDES</b> .....	11
<b>FIGURE 8 : STRUCTURE CHIMIQUE DES ACIDES GALLIQUE (A) ET ELLAGIQUE (B)</b> .....	13
<b>FIGURE 9 : ORIGINE DES DIFFERENTS RADICAUX LIBRES OXYGENES ET ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE IMPLIQUE EN BIOLOGIE (FAVIER, 2003)</b> .....	17
<b>FIGURE 10 : SITUATION GEOGRAPHIQUE DE STATION D'ETUDE</b> .....	22
<b>FIGURE 11 : PROTOCOL EXPERIMENTAL EXPRIME LES DEMARCHES D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES</b> .....	24
<b>FIGURE 12 : REDUCTION DU RADICAL LIBRE DPPH (MOLYNEUX, 2004)</b> .....	26
<b>FIGURE 13 : COURBE D'ETALONNAGE DE L'ACIDE GALLIQUE (MG/ML)</b> .....	30
<b>FIGURE 14 : COURBE D'ETALONNAGE DE LA QUERCETIN (MG/ML)</b> .....	31
<b>FIGURE 15 : REPRESENTATION GRAPHIQUE PRESENTE LA CORRELATION ENTRE LES POLYPHENOLS TOTAUX ET LES FLAVONOÏDES</b> .....	32
<b>FIGURE 16 : COURBES REPRESENTES LE POURCENTAGE D'INHIBITION DE DPPH EN FONCTION DES CONCENTRATIONS DES EXTRAITS DE PLANTES (MD ET AT)</b> .....	33
<b>FIGURE 17 : POUVOIR ANTIOXYDANT DE TROLOX, VITAMINE C ET BHA PAR LE TEST DPPH</b> .....	34
<b>FIGURE 18 : CLASSEMENT CROISSANT DES VALEURS EC50 (EXTRAITS ET STANDARDS)</b> .....	35
<b>FIGURE 19 : COURBE REPRESENTES L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR TEST FRAP(L'ABSORBANCE DES EXTRAITS DE PLANTE (MD ET AT) EN FONCTION DE LEURS CONCENTRATIONS)</b> .....	36
<b>FIGURE 20 : REPRESENTATION GRAPHIQUE PRESENTE LA CORRELATION ENTRE LES POLYPHENOLS TOTAUX ET LES VALEURS DE LOG [EC50]</b> .....	38
<b>FIGURE 21 : REPRESENTATION GRAPHIQUE PRESENTE LA CORRELATION ENTRE LES FLAVONOÏDES ET LES VALEURS DE LOG [EC50]</b> .....	38

# Sommaire

المُلخَص .....	I
RESUME.....	II
ABSTRACT .....	III
LISTE DES ABREVIATIONS .....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES FIGURES .....	V
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>

---

## Chapitre I Synthèse Bibliographiques

---

1. LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES .....	3
1.1. DEFINITION DE LA PHYTOTHERAPIE .....	3
1.2. DIFFERENTS TYPES DE LA PHYTOTHERAPIE.....	3
1.3. LES AVANTAGES DE LA PHYTOTHERAPIE .....	3
1.4. LES PLANTES MEDICINALES .....	4
1.5. EFFICACITE DES PLANTES ENTIERES.....	4
1.6. INTERET DE L'ETUDE DES PLANTES MEDICINALES .....	4
2. DESCRIPTIONS DES PLANTES ETUDIEES.....	5
2.1. <i>ASPHODELUS TENUIFOLIUS</i> .....	5
2.1.1. <i>Position systématique (Rebbas, 2003)</i> .....	5
2.1.2. <i>Description botanique</i> .....	5
2.1.3. <i>Propriétés et usages thérapeutique de l'asphodèle</i> .....	6
2.1.4. <i>Travaux antérieurs</i> .....	6
2.2. <i>MARRUBIUM DESERTI</i> .....	7
2.2.1. <i>Position systématique (Quezel et Santa, 1963)</i> .....	7
2.2.2. <i>Description botanique</i> .....	7
2.2.3. <i>Propriétés et usages thérapeutiques</i> .....	7
2.2.4. <i>Travaux antérieurs</i> .....	7
3. LES COMPOSES PHENOLIQUES .....	8
3.1. GENERALITE .....	8
3.2. BIOSYNTHESE .....	8
3.3. CLASSE DES POLYPHENOLS.....	8
3.3.1. <i>Phénols simple et les acides phénoliques</i> .....	9
3.3.2. <i>Les flavonoïdes</i> .....	10
3.3.3. <i>Les anthocyanosides</i> .....	11
3.3.4. <i>Coumarines</i> .....	12
3.3.5. <i>Quinones</i> .....	12
3.3.6. <i>Stilbènes</i> .....	12
3.3.7. <i>Lignanes</i> .....	12
3.3.8. <i>Tannins</i> .....	12
3.4. PROPRIETES BIOLOGIQUE DES POLYPHENOLS.....	13
3.4.1. <i>Les anthocyanes</i> .....	14
3.4.2. <i>Les tanins</i> .....	14
3.4.3. <i>Les coumarines</i> .....	14
3.4.4. <i>Les acides phénols et ces dérivés</i> .....	14

4.	LE STRESS OXYDATIF .....	15
4.1.	DEFINITION.....	15
4.2.	ORIGINE DU STRESS .....	15
4.3.	LES RADICAUX LIBRES.....	15
4.3.1.	<i>Définition</i> .....	15
4.3.2.	<i>Principaux radicaux libres</i> .....	15
4.3.3.	<i>Origine des radicaux</i> .....	16
4.3.4.	<i>Les conséquences du stress oxydant</i> .....	16
4.4.	LES ANTIOXYDANTS .....	17
4.4.1.	<i>Définition</i> .....	17
4.4.2.	<i>Les antioxydants endogènes</i> .....	18
4.4.3.	<i>Les antioxydants naturels</i> .....	18
4.4.4.	<i>Méthodes d'évaluation des propriétés anti oxydantes in vitro</i> .....	20

---

## Chapitre II: Matériels et Méthodes

---

1.	OBJECTIF .....	22
2.	MATERIEL VEGETAL.....	22
2.1.	ORIGINE GEOGRAPHIQUE ET PERIODE DE RECOLTE DES PLANTES .....	22
2.2.	IDENTIFICATION BOTANIQUE .....	22
3.	PRODUIT CHIMIQUE UTILISEE.....	23
4.	EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES .....	23
4.1.	PREPARATION DES ECHANTILLONS .....	23
4.2.	PREPARATION DES EXTRAITS .....	23
4.3.	CALCUL DU RENDEMENT .....	25
5.	METHODES DE DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUE.....	25
5.1.	DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX.....	25
5.2.	DOSAGE DES FLAVONOÏDES .....	25
6.	EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANT.....	26
6.1.	METHODE DE PIEGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH.....	26
6.2.	METHODE DE REDUCTION DU FER « FRAP » ( <i>FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER</i> ) .....	27

---

## Chapitre III: Résultats et Discussion

---

1.	RESULTATS DU RENDEMENT D'EXTRACTION.....	29
2.	RESULTATS DE DOSAGES DES COMPOSES PHENOLIQUES .....	29
2.1.	TENEUR EN POLYPHENOLS TOTAUX .....	29
2.2.	TENEUR DES FLAVONOÏDES .....	31
3.	RESULTATS DU POUVOIR ANTIOXYDANTS.....	33
3.1.	TEST DPPH* .....	33
3.2.	TEST FRAP ( <i>FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER</i> ) .....	36
3.3.	DISCUSSION.....	37
	<b>CONCLUSION</b> .....	40
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	43

# **Introduction**

## Introduction

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes, on y trouve plus de 3000 espèces végétales. **(Duraffourd et al., 1997)**.

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **(EL Rhaffari et Zaid, 2004)**.

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation,...), permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés **(Duraffourd et al., 1997)**. De multiples études, certes dispersées, portent sur la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les huiles essentielles, qui ont des intérêts multiples mis en faveur de l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation) et pharmaceutique, malheureusement l'exploitation et la valorisation de ces ressources naturelles reste très limitée et très artisanale.

Toutefois, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydantes demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connues dans la médecine.

C'est dans cette optique que notre étude a été scindée en trois parties :

La première partie, est une synthèse bibliographique qui résume les principales caractéristiques des deux espèces sélectionnées appartenant à la famille des lamiacées, *Marrubium deserti* et la famille des liliacées *Asphodelus tenuifolius* des effets thérapeutiques de chacune d'elles, et des substances actives végétales.

La deuxième partie du travail est expérimentale, elle est consacrée à :

- Extraction et dosage des phénols totaux et des flavonoïdes.
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénolique

Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude

Et enfin, notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

**Chapitre I :**

***SYNTHESE***

***BIBLIOGRAPHIQUE***

## 1. La phytothérapie et les plantes médicinales

### 1.1. Définition de la phytothérapie

Traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes, la phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces.

### 1.2. Différents types de la phytothérapie

➤ Aromathérapie :

C'est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

➤ Gemmothérapie :

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les racinelles.

➤ Herboristerie :

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

➤ Phytothérapie pharmaceutique:

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (Strang, 2006).

### 1.3. 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. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux

médicaments et leur résistent de plus en plus .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 (**Iserin et al., 2001**).

#### **1.4. Les plantes médicinales**

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

#### **1.5. Importance des plantes entières**

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. 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.

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 digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Bruneton, 2009; Iserin et al., 2001**).

#### **1.6. Intérêt de l'étude des plantes médicinales**

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus. La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Iserin et al., 2001**).

## 2. Descriptions des plantes étudiées

### 2.1. *Asphodelus tenuifolius*

La première mention en français (1553) se trouve déjà chez Rabelais car le mot n'a pas été composé par un botaniste ; il nous vient directement des Grecs (**François et Sandra, 2011**). Dans la Mythologie grecque entre 11er au 4ème siècle avant christ l'asphodèle est considéré comme plante infernale, ce choix n'est sans doute pas dû uniquement à son aspect. Dans les périodes de grande famine, les Grecs consommaient ses racines mélangées avec des mauves et des figues. Peut-être la considéraient-ils également comme nourriture des morts (**Murr et Baumann, 1984**).

L'Asphodèle est une plante annuelle appartenant à la famille des liliacées qui se développe dans des conditions désertiques, elle est trouvée dans l'Afrique du nord (y compris le Sahara algérien) (**Benhouhou, 2005**).

#### 2.1.1. Position systématique (**Rebbas, 2003**)

<b>Règne</b>	Planta
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Monocotylédones
<b>Ordre</b>	Liliflores /liliales
<b>Famille</b>	Liliacées
<b>Sous-famille</b>	Lilioïdes
<b>Genre</b>	<i>Asphodelus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cav.



**Figure 1 :** Photo *Asphodelus tenuifolius*

#### 2.1.2. Description botanique

Plante annuelle, avec des tubercules à la base, à partir de 20 à 30 cm de hauteur, les feuilles ne sont pas attachés à une tige aérienne mais ressortent du tubercule souterrain, souvent de 15 à 20 cm de long, légèrement charnu, cylindrique, creuse au milieu, glabre et sombre vert. Les feuilles forment une grappe circulaire à la base de la plante. L'inflorescence est une simple grappe, allongée, groupe indéterminée avec traqué fleurs. Les petites fleurs ont six pétales blancs. Les fruits sont de petites capsules avec des graines noires. La floraison a lieu au début du printemps de Mars à Mai (**Benhouhou, 2005**).

### 2.1.3. Propriétés et usages thérapeutique de l'asphodèle

Partie utilisée : Les feuilles et les fruits sont recueillies au printemps et préparés par macération dans de l'huile d'olive, les graines sont broyées. Les graines écrasées sont prises par voie orale, mélangées avec du miel ou de l'huile d'olive, le liquide obtenu à partir des feuilles macérées est utilisé à l'extérieur (voie cutanée) comme un massage. Pris pour les rhumes et les hémorroïdes (semences); fébrifuge; utilisé pour les douleurs rhumatismales. Ce petit *Asphodelus* est également largement utilisé à diverses fins culinaires. Les feuilles sont soit bouillies ou cuites à l'huile, les graines sont broyées et mélangées avec de la farine pour faire du pain, et les jeunes pousses sont ajoutés aux aliments crus pour rehausser le goût. Cette plante est peu appréciée comme pâturage. Les graines sont mélangées avec des céréales pour faire du pain traditionnel et sont aussi consommées comme spécialités lorsqu'il est mélangé avec des dates. (Abdel-Mogib & Basaif, 2002).

### 2.1.4. Travaux antérieurs

Plusieurs travaux ont été effectués sur *Asphodelus tenuifolius*, nous citons comme exemples:

- ✓ Etudes comparative effectuée sur les différences morphologiques, génétiques et biologiques entre *Asphodelus tenuifolius* et *Asphodelus fistulosus* (Rejon et al., 1990).
- ✓ Mise en évidence de deux nouveaux métabolites secondaires (Asphorin A et B : triterpènes glycosides) (Safder et al., 2012).
- ✓ Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des plantes médicinales vis-à-vis d'espèces microbiennes isolées cliniquement des patients atteints de cancer de la bouche traités (Panghal et al., 2011).
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des plantes couramment utilisées dans le système de la médecine grec (Kalim et al., 2010).

## 2.2. *Marrubium deserti*

### 2.2.1. Position systématique (Quezel et Santa, 1963)

<b>Règne</b>	Planta
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Endicots
<b>Sous-classe</b>	Astérides
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Marrubium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Marrubium deserti</i> De Noé



**Figure 2 :** Photo illustrant l'espèce *Marrubium deserti* De Noé

### 2.2.2. Description botanique

C'est une espèce endémique saharienne trouvée en Algérie et au Maroc, sous forme d'arbrisseau blanchâtre très rameux à poils laineux. Les tiges et les feuilles sont blanchâtres à pilosité apprimée très courte. Les épis sont grêles, lâches, interrompus et larges de 12-15 mm. Les fleurs rose pâle en tube sont entourées par un calice vert et disposées au-dessus de chaque paire de feuilles. C'est une plante broutée par les herbivores. Elle est commune dans le nord du Sahara et le Sahara central, où on la trouve sur tout dans les pâturages désertiques (Quezel et Santa, 1963).

### 2.2.3. Propriétés et usages thérapeutiques

Dans la médecine traditionnelle Européenne, les extraits aqueux et hydro-alcoolique de la partie aérienne fleuris de *Marrubium* sp. sont employés contre le toux, comme neurosédatif, cholérétique dans les troubles digestives et biliaires et pour ces propriétés anti-inflammatoire et antimicrobienne (Rigano *et al.*, 2007). Cependant, les feuilles, les rameaux et les jeunes bourgeons de *M. deserti* sont utilisés en décoction, infusion et macération contre les troubles intestinaux, les maladies respiratoires, la fièvre, la toux, la dysménorrhée, la piqûre de scorpion et les allergies (Ould El Hadj *et al.*, 2003; Hammiche et Maiza, 2006).

### 2.2.4. Travaux antérieurs

Les espèces du *Marrubium* sont riche en composés phénoliques, flavonoïdes et en phenyethanoides mais le genre est mieux connu à produire les diterpénoïdes tels que le marrubiine qui est étudié pour ces propriétés chimiques, thérapeutiques (antitumoral) et pharmacologiques (Hennebelle *et al.*, 2007 ; Sarikurku *et al.* , 2008).

D'autres auteurs ont montré l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux de *M. deserti* (Benhamou *et al.*, 2009 ; Djeridane *et al.*, 2010).

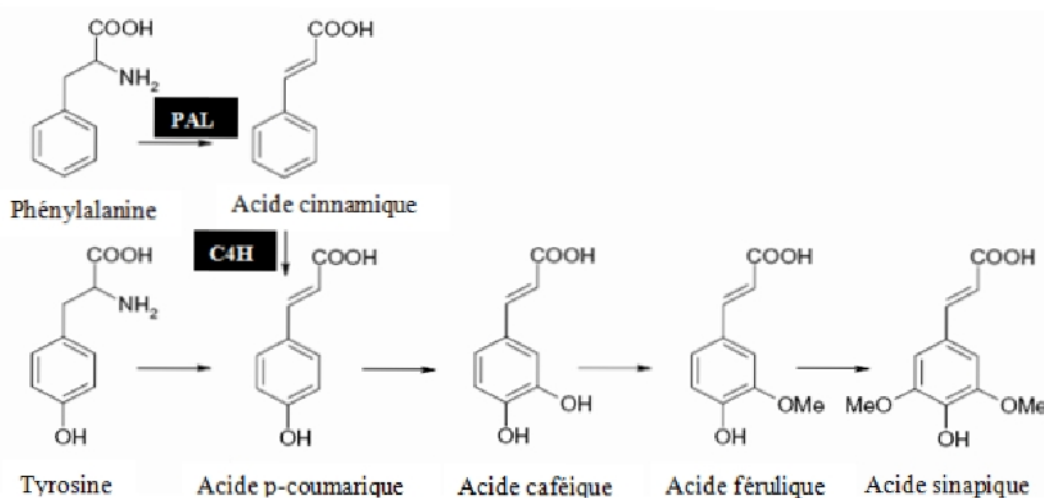
### 3. Les composés phénoliques

#### 3.1. Généralité

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir amplement (**Bruneton, 1993**). Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons vin rouge, thé, café, jus de fruits. (**Middleton et al., 2000**).

#### 3.2. Biosynthèse

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique (**Figure 3**). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés: acide benzoïque, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (**Bruneton, 1993**).


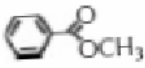

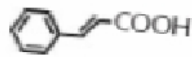
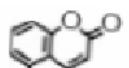

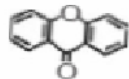
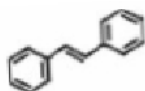
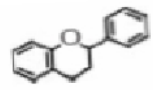


**Figure 3 :** Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier et al., 2006). PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnamate4-hydroxylase.

#### 3.3. Classe 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 (**Tableau 1**). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

**Tableau 1** : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006)

N° de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phénylacétique	Acide $\rho$ -hydroxyphénylacétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide $\rho$ -coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	

### 3.3.1. Phénols simple 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.

#### a) Phénols simples

Tels que le catéchol, guaiacol, phloro glucinol...sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montrés pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999).

### b) Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

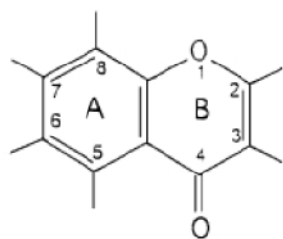
Les acides phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexa hydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (**Bruneton, 1993**).

### c) Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

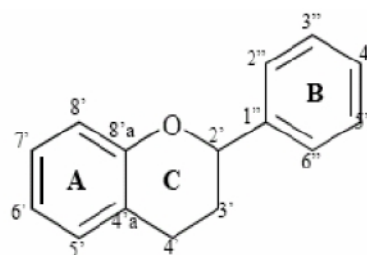
La plupart des acides phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (acides *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides *o*-coumarique, *o*-férulique) sont peu fréquents (**Bruneton, 1993**). Les acides cinnamique et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phényl propaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation (**Cowan, 1999**).

### 3.3.2. Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules sont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omni présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante (**Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (**Edenharder et Grünhage, 2003**) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C -C - C<sub>6</sub> de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (**Yao et al., 2004**) (**Figures 4 et 5**).



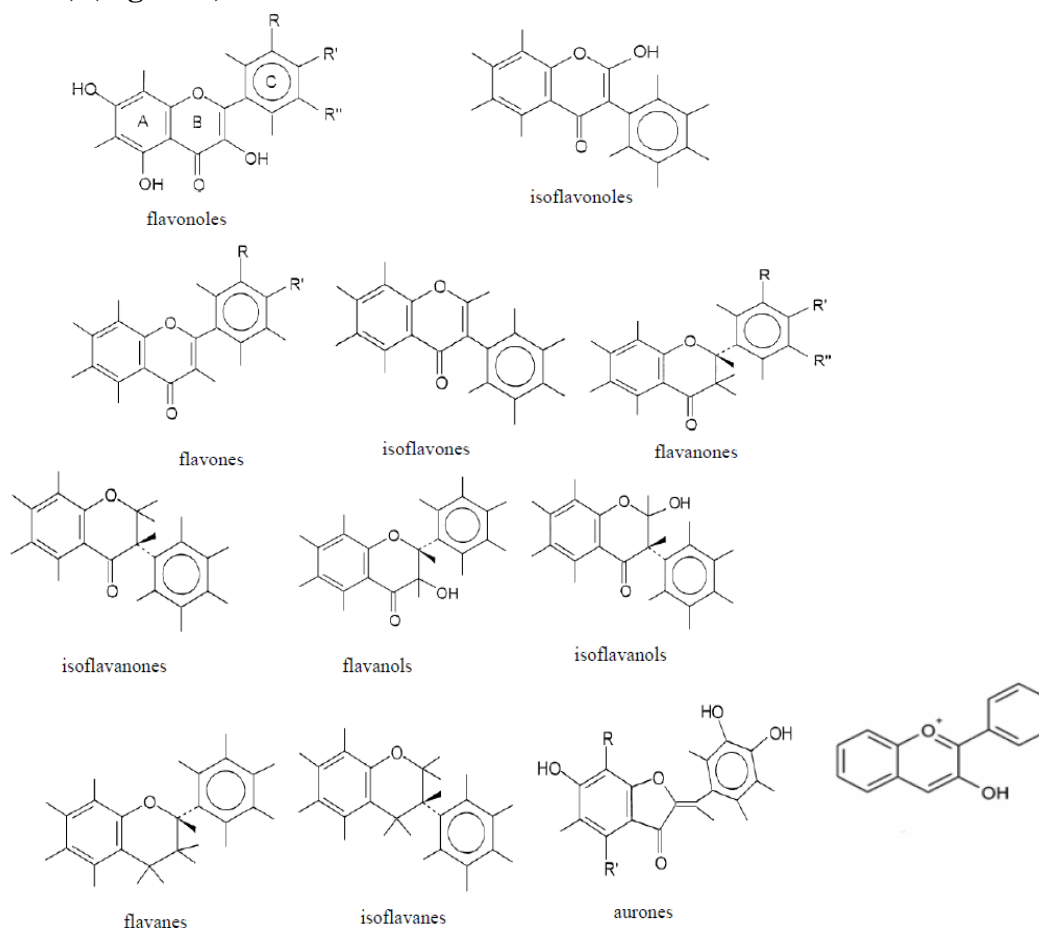
**Figure 4** : Structure du 2-phénylchromane



**Figure 5** : Structure générale des flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation<sub>2,3</sub>, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C C groupe de 3-O et la fonction 4-oxo (**Yao et al., 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**).

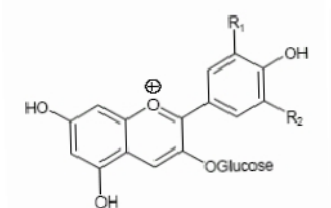
En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols;flavanones;isoflavanones ; auronnes (**Havsteen, 2002 ; Edenharter et Grünhage, 2003**) (**Figure 6**).



**Figure 6** : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Havsteen, 2002)

### 3.3.3. Les anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (**Bruneton, 1993**). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) (**Brouillard et al., 1997 in Bahorum, 1997**).



**Figure 7** : Structure des anthocyanosides

### 3.3.4. Coumarines

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de  $C_6-C_3$ , appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- $\alpha$ -pyrone (**O Kennedy et Thornes, 1997**) et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin. (**Cowan,1999**).

### 3.3.5. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicétyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicétyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (**Bruneton,1993**). Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (**Cowan,1999**).

### 3.3.6. Stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure  $C_6-C_2-C_6$  comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier et al., 2006**).

### 3.3.7. Lignanes

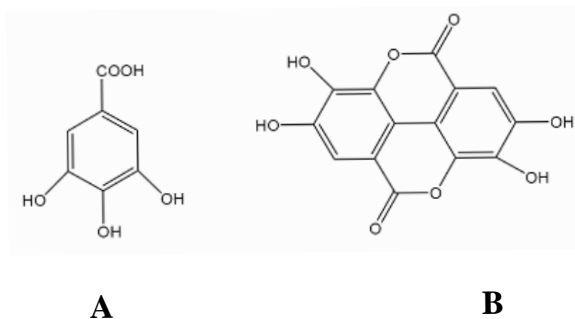
Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques ( $C_6-C_3$ ). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles.

### 3.3.8. Tannins

Cette classe désigne le nom général des criptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Haslam,1996 ;Cowan,1999**) On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

#### a) Tannins hydrolysables :

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallo-tannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Figure 8) (**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999**).



**Figure 8 :** Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)

### b) Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols :

Qui se différencie fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (Bruneton, 1999).

### 3.4. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-athérogène, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatrice (Middleton *et al.*, 2000; Ksouri *et al.*, 2007).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).

Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. (Hennebelle *et al.*, 2004).

### 3.4.1. Les anthocyanes

Sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire, mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision (**Hennebelle et al., 2004**).

Présente comme des couleurs brillantes dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines sont montrées leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines (**Zhang et al., 2005**).

### 3.4.2. Les tanins

Ils sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (**Chung et al., 1998**).

Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (**Rahman et al., 2006**), ils inhibent les ions  $\text{Cu}^{2+}$  qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (**Yoshida et al., 1999**).

### 3.4.3. Les coumarines

Sont utilisées pour leurs propriétés vasculo-protectrices, neuro-sédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (**Hennebelle et al., 2004**). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, les superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (**Anderson et al., 1996**).

### 3.4.4. Les acides phénols et ces dérivés

Sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (**Hennebelle et al., 2004**). Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (**Bossokpi, 2002**). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (**Cowan, 1999**). Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuses du poumon chez les souris *in vitro* et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cis platine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (**Kawada et al., 2001 in Rangkadilok et al., 2007**).

## 4. Le stress oxydatif

### 4.1. Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des Espèces Réactives de l'Oxygène (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).

### 4.2. Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une sur production énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant» (Favier, 2003).

### 4.3. Les radicaux libres

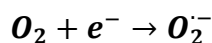
#### 4.3.1. Définition

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* (Figure 9) (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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroxy nitrite (ONOO<sup>-</sup>) (Novelli, 1997).

#### 4.3.2. Principaux radicaux libres

L'anion super oxyde: la molécule d'oxygène, mise 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.



Le radical hydroxyle : (OH<sup>•</sup>) Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

### Le radical peroxyde (ROO•)

L'oxygène singlet ( $O_2^•$ ) forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Hadi, 2004**).

#### **4.3.3. Origine des radicaux**

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques (**Figure 9**) afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létal est-elle la mort cellulaire programmée ou apoptose (**Favier, 2003**).

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

L'inflammation est par ailleurs une source importante de 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**).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux (**Hadi, 2004**).

#### **4.3.4. Les conséquences du stress oxydant**

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des 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 circulant s'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 mutagène sou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Il sagissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéine sou 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,  $H_2O_2$  et  $OH^\bullet$ , qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde. Ce phénomène de glycosoxydation est néfaste chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (Favier, 2003).

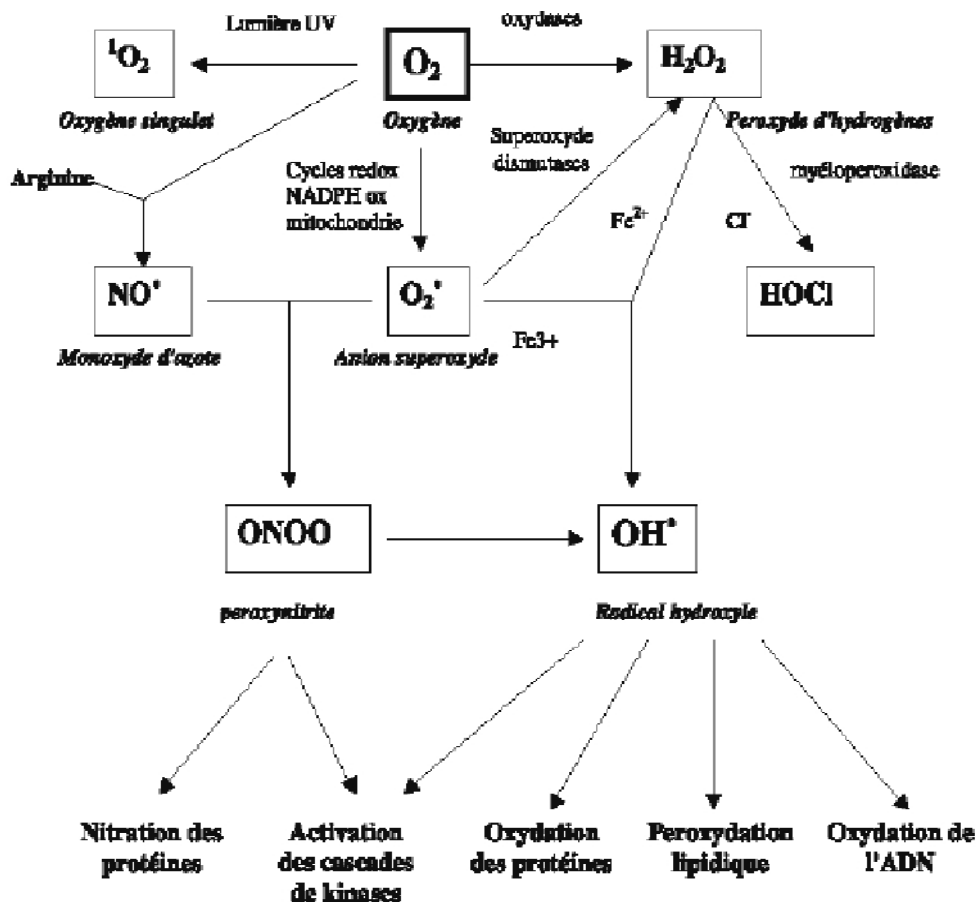


Figure 9 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et Espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

## 4.4. Les antioxydants

### 4.4.1. Définition

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd et al., 2003), ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puis qu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyle, collectivement connus sous le nom d'oxygène actif (Boyd et al., 2003).

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (**Vansant, 2004**).

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, ils sont la stratégie préventive la plus prometteuse contre la formation des cataractes (**Hale, 2003**).

#### 4.4.2. Les antioxydants endogènes

Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en :

- ❖ Un système de défense primaire: composé d'enzymes et de substances antioxydantes
  - ✓ le superoxyde dismutase (SOD): diminue la durée de vie de l'anion superoxyde  $O_2^-$
  - ✓ La catalase: transforme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en simple molécule d'eau
  - ✓ La glutathion peroxydase (GPx): détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques.
  - ✓ Les molécules piègeurs: le glutathion réduit (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols, ubiquinone, ... etc.
- ❖ Un système de défense secondaire: composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipases, des ADN endonuclease et ligase, des macroxy protéinases (**Pincemail et al., 1998**).

#### 4.4.3. Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in-vivo ont été proposé. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E ... etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles sont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda et Hampson, 1999**).

**La vitamine E** est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (**Maydani, 2000a**) et la diminution de l'athérosclérose (**Maydani, 2000b**). La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la  $\beta$ -amyloïde, d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E (**Pieroni et al., 2002**). Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus biodisponible que la vitamine E synthétique (**Burton et al., 1998**). La vitamine E est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines (**Vansant, 2004**).

**Les Caroténoïdes** sont une classe de composés phytochimiques très importante, trouvés dans les légumes et fruits, également dans le lait, empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication, empêchent l'expression des oncogènes, augmentent l'activité de communication des gap junctions. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet de cette chaîne polyène, par mécanisme d'addition, permet l'incorporation des espèces réactives ou radicaux libres et de ce fait ralentir leur propagation, les caroténoïdes sont impliqués dans la prévention de nombreux types de cancer; cancer de la prostate; cancer du poumon (**Hale, 2003**).

**La vitamine C** est largement répandue dans les fruits (**Vansant, 2004**), L'influence sur les dégâts protéique sa été examinée dans des études d'apports de suppléments, principalement sur des modèles de rats et il y a eu quelques essais chez l'homme . L'apport de suppléments de vitamine C prévient également des dégâts oxydatifs sur les protéines induits par la fumée de cigarettes (**Panda et al., 1999** ). Des études animales avec du  $\beta$ -carotène (**Sarkar et al., 1995** ) et de l'acide-lipoïque (**Cakatay et al., 2000**) ont aussi démontré qu'ils empêchaient les dégâts protéiques.

**L'acide alphalipoïque** lorsqu'il fut isolé il'y a cinquante ans, l'acide alphalipoïque fut identifié comme vitamine. Il a depuis été reclassé comme antioxydant et peut piéger les radicaux libres aux niveaux intracellulaire et extracellulaire. Du fait qu'il est aussi bien liposoluble qu'hydrosoluble, il peut accéder à toutes les parties de nos cellules (**Packer, 1995**) .L'acide lipoïque réduit la glycation et favorise le transfert du glucose sanguin aux cellules par l'insuline (**Kahler et al., 1993**).

#### 4.4.4. Méthodes d'évaluation des propriétés anti oxydantes *in vitro*

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité anti oxydante des aliments et les systèmes biologiques (Ali et al., 2008; Scherer et Godoy, 2009). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang et al., 2005).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (Sanchez-Moreno et Larrauri, 1998).

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habileté du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle ( $\cdot OH$ ), des anions superoxyde ( $O_2^-$ ), du peroxyde ( $ROO\cdot$ ) Et de l'oxyde nitrique ( $NO\cdot$ ) (Sanchez-Moreno, 2002).

Parmi ces techniques, nous citons :

- ✓ la méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Brand Williams et al., 1995)
- ✓ la méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (Benzie et Strain, 1996)
- ✓ la méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (Cao et al., 1993)
- ✓ la méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (Miller et al., 1993)
- ✓ la méthode de DMPD (Balayage du radical cation N,N-diméthyl-phényle ne diamine) (Li et al., 1994)
- ✓ la méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (Winston et al., 1998)
- ✓ la méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) (Wayner et al., 1985)
- ✓ la méthode photochimiluminescence (PCL) (Popov et al., 1987)
- ✓ la méthode d'hémolyse (Charfi, 1995)

## **Chapitre II :**

### ***Matériels et Méthodes***

## 1. Objectif

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de Biochimie, département de Biologie Université de Laghouat.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité anti-radicalaire/anti-oxydante des composés phénoliques de deux plantes médicinales sahariennes « *Asphodelus tenuifolius* » et « *Marrubium deserti* » par le biais de deux méthodes : piégeage de radicaux libre DPPH<sup>•</sup> et la réduction de fer (FRAP).

Les matériels et les méthodes expérimentales utilisés dans ces travaux, sont décrits comme suit.

## 2. Matériel végétal

### 2.1. Origine géographique et période de récolte des plantes

Les espèces sélectionnées ont été récoltées dans la région d'*El Jaoua*, de la commune d'*El Atteuf* wilaya de Ghardaïa (tableau 2), durant le mois d'Avril 2014.

Ces deux espèces sont très utilisées par la population locale. Leurs propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques n'ont pas donné lieu à d'importantes recherches scientifiques.

**Tableau 2 :** Situation géographique des stations de récolte

Région	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Ghardaïa (El Atteuf)	32° 28' 39" N	3° 44' 52" E	Aride

### 2.2. Identification botanique

Les deux espèces ont été identifiées par le Dr. Saridi Abdelkader botaniste au niveau du département de biologie université Amar Telidj Laghouat (Algérie).



**Figure 10 :** Situation géographique de station d'étude

### 3. Produit chimique utilisée

Hexane, Dichlorométhane (DCM), Acétate d'éthyle, Acétone, Méthanol, *Folin-Ciocalteu*, Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), Acide gallique, Quercétine.

### 4. Extraction des composés phénoliques

#### 4.1. Préparation des échantillons

Les plantes récolées et triées sont séchées à l'air libre, à l'ombre et à température ambiante pendant plusieurs jours, puis broyées au mortier.

#### 4.2. Préparation des extraits

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les parties aériennes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Pour une bonne démarche et une manipulation plus aisée, nous avons choisi des lettres pour nommer les deux plantes étudiées d'où : « **AT** » signifié l'espèce *Asphodèle* et « **MD** » signifie *Maruubium desertie*.

La méthode d'extraction est effectuée comme décrite dans les travaux de **Diallo et al. (2004)**. Le protocole consiste à des macérations successives dans quatre solvants à polarité croissante à suivre : Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle et Acétone.

##### ➤ Macération par l'hexane (HEX)

Macération de 10g de chaque plante broyée (AT et MD séparément) dans de 100ml de solvant organique (Hexane), cette macération est répétée 2 fois en renouvelant le solvant chaque 24 heures, puis filtrées et évaporé à l'aide d'un rota-vapeur à 45°C. La phase résiduelle obtenue subit une solubilisation dans le méthanol pour l'obtention de l'extrait HEX

##### ➤ L'extraction par Dichlorométhane (DCM)

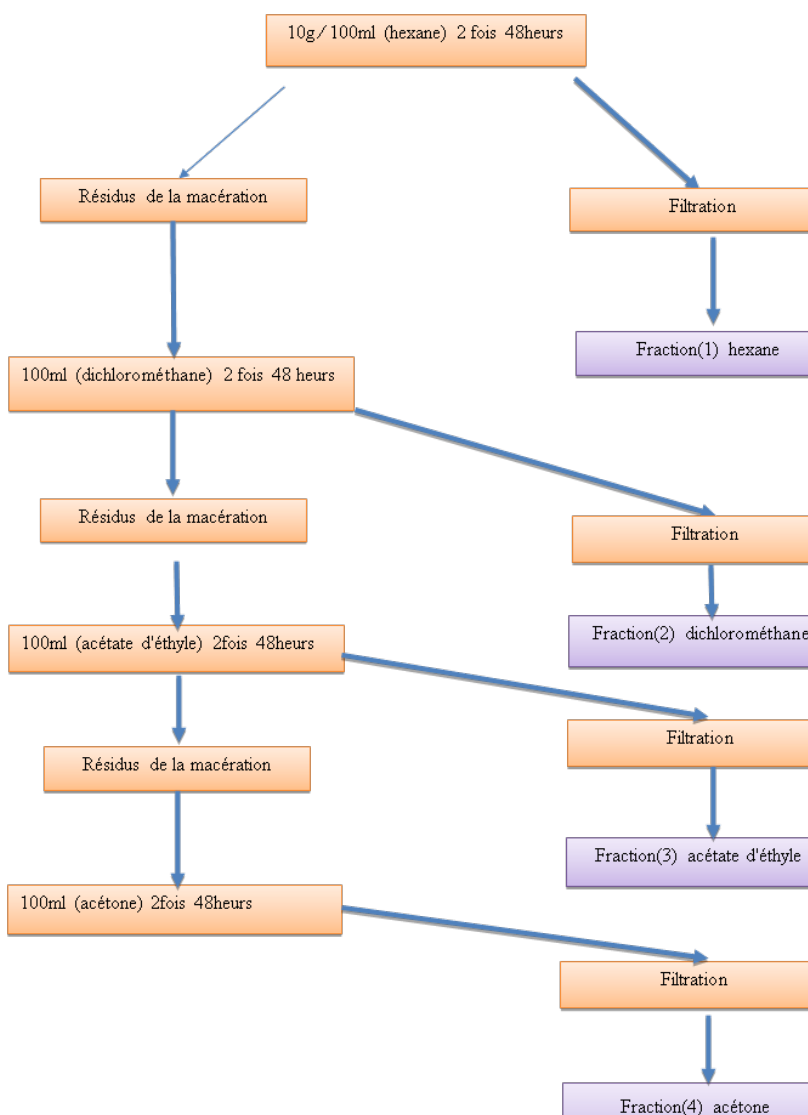
Le résidu de la plante à près le séchage macérés deux fois avec 100 ml DCM, avec renouvellement le solvant chaque 24 heures puis filtrées et évaporé à l'aide d'un rota-vapeur à 45°C. La phase résiduelle obtenue subit une solubilisation dans le méthanol pour l'obtention de l'extrait DCM.

➤ **L'extraction au l'acétate d'éthyle (AcET)**

Le résidu de la plante à près le séchage macérés deux fois avec 100 ml de l'acétate d'éthyle, avec renouvellement le solvant chaque 24 heures puis filtrées et évaporé à l'aide d'un rota-vapeur à 45°C. La phase résiduelle obtenue subit une solubilisation dans le méthanol pour l'obtention de l'extrait AcET.

➤ **L'extraction par l'acétone (ACT)**

Le résidu de la plante à près le séchage macérés deux fois avec 100 ml de l'acétone, avec renouvellement le solvant chaque 24 heures puis filtrées et évaporé à l'aide d'un rota-vapeur à 45°C. La phase résiduelle obtenue subit une solubilisation dans le méthanol pour l'obtention de l ACT.



**Figure 11 :** Protocol expérimental exprime les démarches d'extraction des composés phénoliques

### 4.3. Calcul du rendement

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanoliques a été calculé par la formule suivante :

$$R \% = (m/m_0) \times 100$$

**R %** : Rendement exprimé en %.

**m** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**m<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

## 5. Méthodes de dosage des composés phénolique

### 5.1. Dosage des polyphénols totaux

Tout le contenu phénolique dans l'extrait brut des extraits a été déterminé par spectrophotomètre au biais de la méthode *Foline-Ciocalteu*, rapportée dans **Slinkard and Singleton (1977)**, le réactif est formé d'acide phospho-tungestique  $H_3PW_{12}O_{40}$  et d'acide phospho-molybdique  $H_3PM_{12}O_{40}$ , qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène (**Giner-Chavez, 1996**).

#### Mode opératoire

Quarante microlitre pour chaque solution des extraits (AT, MD) et 2,16 ml d'eau distillée sont ajouté à 200 $\mu$ L de réactif de Folin-ciocalteu, après 3min d'incubation, 600 $\mu$ L de la solution  $Na_2CO_3$  (20%) est ajouté ; la solution final est incubée pendant 30min à 40°C. L'absorbance a été déterminé à  $\lambda = 765$  nm contre le blanc (40 $\mu$ L MeOH).

#### La courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de concentrations allant de 0,25 g/L jusqu'à 1 g/L.

### 5.2. Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes a été déterminé en adoptant le procédé modifié, décrit par **Djeridane et al. (2006)**. Le mélange s'est composé de 20 $\mu$ L de l'échantillon, 30 $\mu$ L de MeOH, un millilitre de " $AlCl_3$ " préparé dans le MeOH et 0,95 ml d'eau distillée, le tout a été incubé pendant une heure à l'obscurité. L'absorbance a été mesure à  $\lambda = 420$  nm.

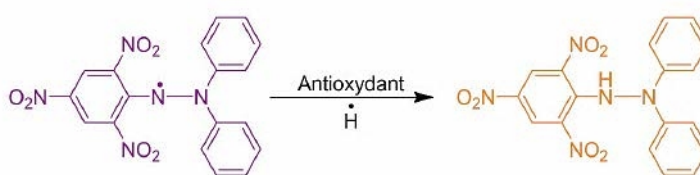
#### La courbe d'étalonnage

La Quercétine a été utilisée comme étalon pour tracer la courbe d'étalonnage. Une solution mère de concentration 0,5 g/L préparé dans le MeOH a été diluée pour obtenir des solutions filles de concentrations différentes varient entre 0,01 g/L et 0,5 g/L.

## 6. Evaluation de l'activité antioxydant

### 6.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par **Sanchez-Moreno et al., (1998)**. Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune (figure 20) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.



**Figure 12** : Réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004)

#### Mode opératoire

Cinquante microlitres de chaque solution méthanoliques des extraits à différentes concentrations ou de standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanoliques du DPPH (0,0025g/l). En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

#### Expression des résultats

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\%Inhibition = \left[ \frac{A_c - A_e}{A_c} \right] \times 100$$

**A c** : Absorbance du contrôle

**A e** : Absorbance de l'échantillon testé

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues. Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur EC50 qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (**Samarth et al., 2008**).

## 6.2. Méthode de réduction du fer « FRAP » (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). En effet le  $\text{Fe}^{3+}$  participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 750 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Berker et al., 2007**).

### Mode opératoire

400  $\mu\text{l}$  de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1ml de l'acide chlorhydrique HCl (1M) et 200  $\mu\text{l}$  de SDS (1%) et 300  $\mu\text{l}$  d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1%), L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes puis refroidi à température ambiante. 200  $\mu\text{l}$  d'une solution de chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  (0,1%) a été ajouté au mélange réactionnel. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 750nm à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis contre, un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil.

## **Chapitre III :**

### ***Résultats et Discussion***

## 1. Résultats du rendement d'extraction

Dans notre travail, nous nous intéressons aux procédés d'extraction à partir d'un système solide (la partie aérienne de la plante).

Les résultats du pourcentage en extraits bruts sec ainsi les couleurs et aspects sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau 3 :** Rendement en extraction des composé phénolique de et (AT) et (MD)

Les extraits	Rendement %		Aspect est couleur
	MD	AT	
Hexane (HEX)	3,59	2,59	Marron visqueux
Dichlorométhane (DCM)	4,49	2,36	Vert visqueux
Acétate d'éthyle (AcET)	1,25	0,43	Vert visqueux
Acétone (ACT)	0,65	0,57	Vert visqueux

Sachant que la procédure de l'extraction appliquée pour les deux plantes est effectuée dans les mêmes conditions expérimentales, les résultats obtenus montrent des rendements d'extraction variables. En effet, les taux d'extraction les plus élevés correspondent à ceux de l'extrait HEX et DCM de l'espèce "MD" (4,49 % et 3,59% respectivement), et même l'extrait HEX et DCM de l'espèce "AT" (2,59 % et 2,36 % respectivement), tandis que le taux le plus faible de l'extrait AcET et ACT est celui de l'espèce "MD" (1,25 % et 0,65% respectivement) et l'extrait de l'espèce "AT" (0,43% et 0,57 % respectivement). Cette différence pourrait être due principalement à la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans les solvants utilisés ou bien à la taille des particules de la poudre végétale (Vermerris et Nicholson, 2006).

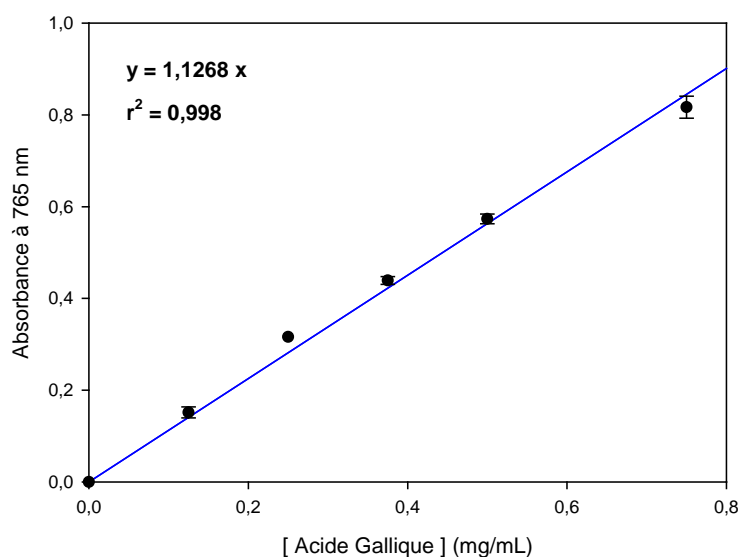
## 2. Résultats de dosages des composés phénoliques

### 2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des espèces étudiées ont été déterminées en utilisant le réactif de *Folin-Ciocalteu*, ce dernier forme un complexe rédox avec l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) lors de l'oxydation des phénols.

Malgré la sensibilité et la simplicité de la méthode *Folin*, elle n'est pas spécifique des polyphénols. En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide ascorbique et des composés soufrés (Singleton et al., 1999).

Une étude comparative en phénols totaux a été faite grâce à une courbe d'étalonnage (figure 13), réalisée avec un extrait d'acide gallique à différentes concentrations



**Figure 13 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml)

Les teneurs en phénols totaux mesurés à l'aide du réactif de *Folin-Ciocalteu* varient de 52,14 à 106,05 mg EAG/g de la plante "MD" et 14,16 à 98,51 mg EAG/g) de la plante "AT". Les teneurs en polyphénols totaux de différents extraits sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 4 :** Teneur en polyphénols totaux de deux plantes

	Polyphénols totaux (mg EAG/g résidu sec)	
	MD	AT
<i>Extraits</i>		
Hexane (HEX)	52,14 ± 5,46	14,16 ± 2,82
Dichlorométhane (DCM)	46,90 ± 4,83	18,10 ± 1,63
Acétate d'éthyle (AcET)	32,66 ± 5,77	50,45 ± 3,07
Acétone (ACT)	106,05 ± 12,17	98,51 ± 3,64

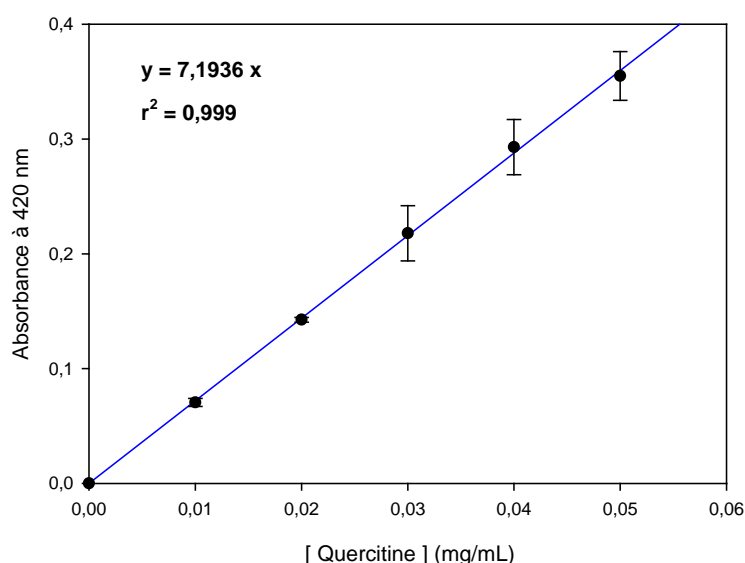
Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (Ebrahimi *et al.*, 2008).

- ✓ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004).
- ✓ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003).

## 2.2. Teneur des flavonoïdes

Des dosages spectrophotomètre ont été effectués par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  à partir des extraits bruts des deux plantes afin de déterminer la teneur totale des flavonoïdes. Pour cette objectif, une courbe d'étalonnage réalisée par la quercetin a été tracée (figure 14). Les résultats des teneurs en flavonoïdes totaux sont représentés dans le tableau 5.



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de la quercetin (mg/ml)

**Tableau 5 :** Teneur en flavonoïdes totaux de deux plantes (MD) et (AT)

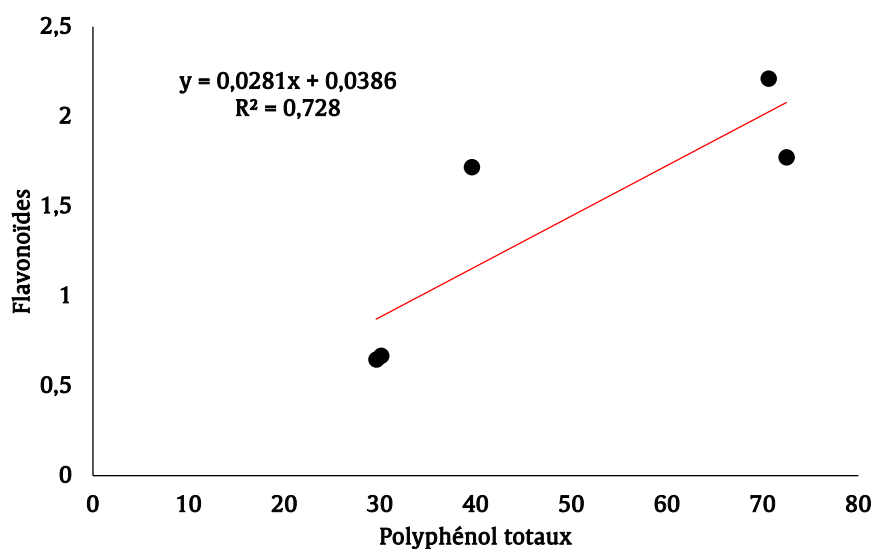
	Flavonoïdes (mg EQ/g résidu sec)	
	MD	AT
<i>Extraits</i>		
Hexane (HEX)	0,47 ± 0,12	0,23 ± 0,09
Dichlorométhane (DCM)	0,98 ± 0,18	0,22 ± 0,07
Acétate d'éthyle (AcET)	0,73 ± 0,64	2,22 ± 1,29
Acétone (ACT)	4,73 ± 0,38	1,87 ± 0,00

Les résultats indiquent que "MD" présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes qui est de  $4,73 \pm 0,38$  mg EQ/g d'extrait en le comparant avec l'espèce "AT" dont sont extrait contient  $2,50 \pm 0,029$  mg EQ/g de résidus sec.

Ces analyses sont similaires en moyenne à celles trouvées par **Miliauskas *et al.* (2004)** dont les valeurs sont comprises entre 1,4 - 5,7 mg EQ/g d'extrait pour les espèces de la sauge. Ainsi les résultats de **Madi (2010)** montrent une teneur en flavonoïdes de  $1,7 \pm 0,001$  mg EQ/g d'extrait qui est aussi une valeur proche à celle exprimée dans nos résultats.

D'autre part nos résultats de la teneur de l'asphodèle en flavonoïdes ( $5,42 \pm 0,88$ ) sont inférieurs à ceux trouvés par **Mehar *et al.* (2010)** qui sont de l'ordre de  $11,98 \pm 0,74$ .

De même une faible corrélation ( $R^2 = 0,728$ ) est observée entre le contenu polyphénolique et flavonoïdes (figure 15). C'est le cas des extraits de nos plantes étudiées qui sont riches en phénols totaux, mais ils ne présentent pas la teneur la plus élevée en flavonoïdes. Ces mêmes résultats sont obtenus par **Madi (2010)**, lors d'une étude effectuée sur les espèces de la famille des lamiacées, ainsi que les résultats de **Miliauskas *et al.*, (2004)**. Ce phénomène peut être dû aux méthodes analytiques utilisées.



**Figure 15 :** Représentation graphique présente la corrélation entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes

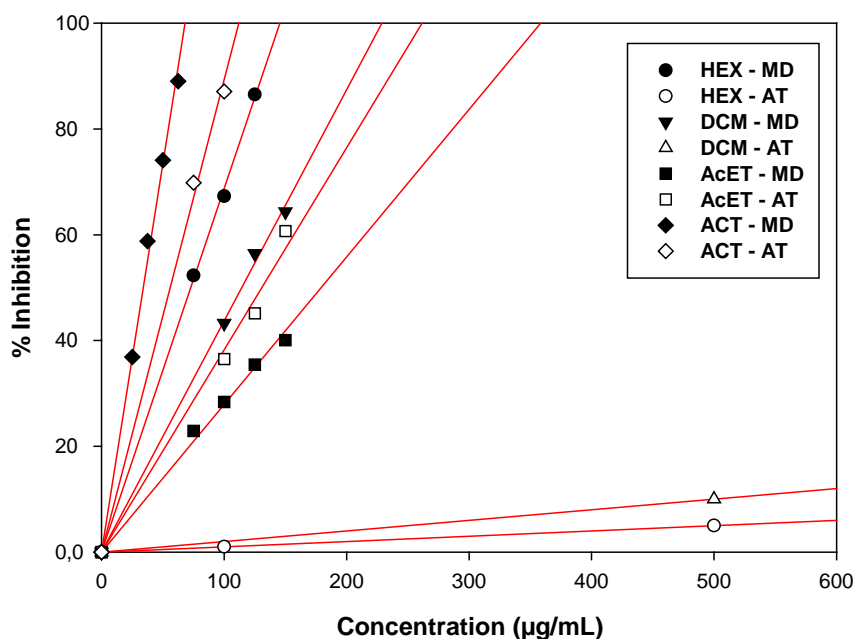
### 3. Résultats du pouvoir antioxydants

#### 3.1. Test DPPH<sup>\*</sup>

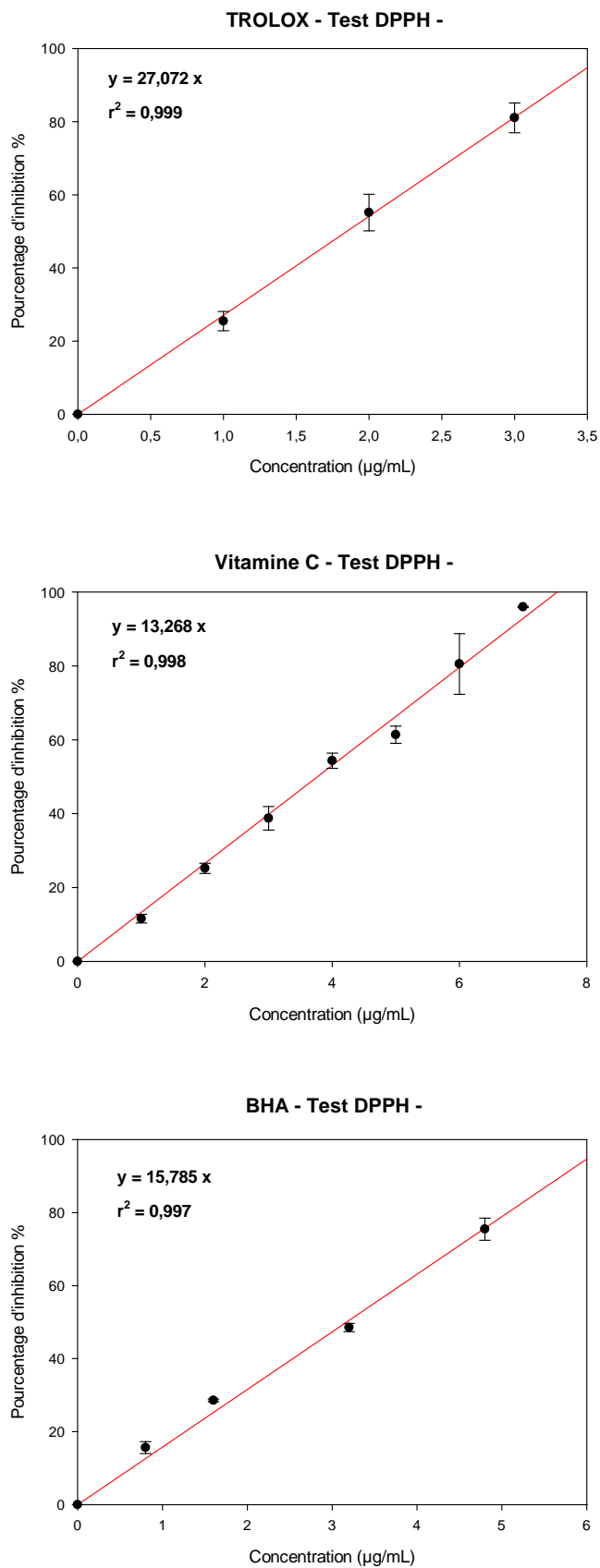
L'activité antioxydant des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH<sup>\*</sup> a été évaluée par spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

La figure 16 regroupe les résultats du pouvoir antioxydants des quatre extraits de deux plantes MD et AT (pourcentage d'inhibition de radical DPPH<sup>\*</sup> en fonction de la concentration des échantillons de plante), par la méthode de piégeage du radical libre DPPH<sup>\*</sup>.

Les valeurs d'EC<sub>50</sub> (concentration efficace pour réduire 50% des radicaux libre de DPPH<sup>\*</sup>) ont été déterminées pour nos extraits à partir des représentations graphiques (figure 16). De même, on a calculé l'EC<sub>50</sub> des antioxydants de référence (Trolox, Vitamine C et BHA) à fin de les comparer avec nos extraits (figure 17).



**Figure 16 :** Courbes représentes le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits de plantes (MD et AT)



**Figure 17 :** Pouvoir antioxydant de Trolox, Vitamine C et BHA par le test DPPH

Les valeurs calculées d'EC<sub>50</sub> en (µg/ml) pour les différents extraits des échantillons (MD et AT) et les standards (antioxydant de référence), sont regroupés dans le Tableau 6.

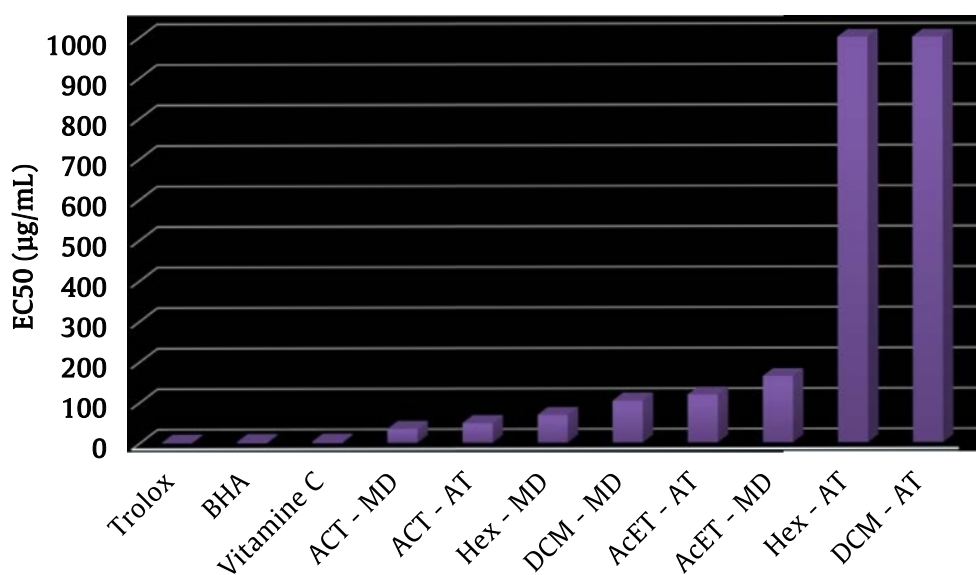
**Tableau 6 :** Les valeurs EC<sub>50</sub> du test DPPH des extraits de plante (MD et AT)

<i>Extraits</i>	Valeurs de l'EC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	MD	AT
Hexane (HEX)	68,36 ± 6,27	>1000
Dichlorométhane (DCM)	103,38 ± 15,57	>1000
Acétate d'éthyle (AcET)	163,52 ± 22,27	118,25 ± 17,78
Acétone (ACT)	34,53 ± 0,71	48,36 ± 10,83
<i>Standards</i>		
Trolox	1,85 ± 0,12	
Vitamine C	3,77 ± 0,17	
BHA	3,17 ± 0,13	

Toutes les extraits testées (HEX), (DCM), (AcET) et (ACT) ont été provoqué une diminution importante de l'absorbance à 517 selon leur concentrations.

De manière générale, il ressort que les valeurs de l'EC<sub>50</sub> des extraits phénoliques HEX, DCM, AcET et ACT des deux plantes (MD) et (AT) et les antioxydants de référence se présentent dans l'ordre suivant (figure 18) :

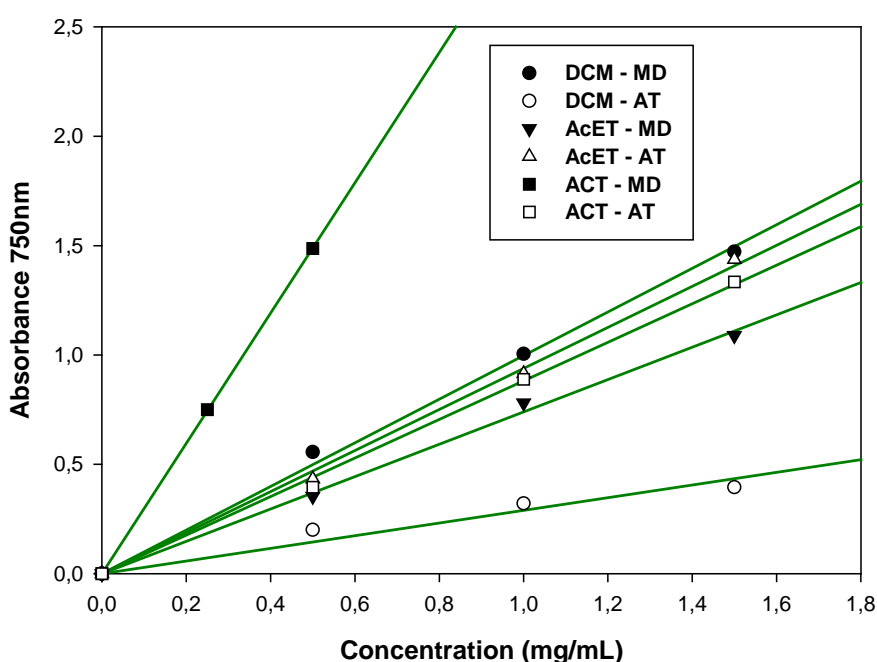
*Trolox < BHA < Vit. C < MD (ACT) < AT (ACT) < MD (HEX) < MD (DCM) < AT (AcET) < MD (AcET) < AT (HEX, DCM)*



**Figure 18 :** Classement croissant des valeurs EC<sub>50</sub> (Extraits et Standards)

### 3.2. Test FRAP (*Ferric Reducing Ability Antioxidant*)

L'activité antioxydante des extraits des plantes étudiées a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Ability Antioxidant*). Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). En effet le  $\text{Fe}^{3+}$  participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 750 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (figure 19).



**Figure 19** : Courbe représentées l'activité antioxydante par test FRAP(l'absorbance des extraits de plante (MD et AT) en fonction de leurs concentrations)

Les valeurs de TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant capacity*) ont été déterminées pour nos extraits à partir des représentations graphiques (figure 19). Les valeurs de TEAC sont regroupées dans le Tableau 7.

**Tableau 7** : Les valeurs TEAC du test FRAP des extraits de plante (MD et AT)

<i>Extrait</i>	TEAC (mg Equivalent Trolox/g résidu sec)	
	MD	AT
Dichlorométhane (DCM)	67,24 ± 4,27	20,71 ± 0,45
Acétate d'éthyle (AcET)	52,12 ± 0,01	65,57 ± 0,78
Acétone (ACT)	209,66 ± 0,26	64,20 ± 2,96

### 3.3. Discussion

On constate que la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon (MD) et (AT) a présenté une activité plus élevée que celles des autres fractions, dont les valeurs d'EC<sub>50</sub> (DPPH) sont 34,53 ± 0,71 µg/mL (MD) et 48,36 ± 10,83 µg/mL (AT)

En revanche, le test FRAP révèle des valeurs de TEAC hautement supérieur pour la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon (MD) (209,66 ± 0,26 mg Equivalent Trolox/g résidu sec) que la fraction d'acétone de l'échantillon (AT) (64,20 ± 2,96 mg Equivalent Trolox/g résidu sec).

Cette activité pourrait être liée à sa richesse en polyphénols totaux (106,05 ± 12,17 mg EAG/g de résidu sec).

Ces résultats s'expliqueraient non seulement par la richesse des extraits en polyphénols, mais aussi par la nature de leurs composés phénoliques hydrosolubles (flavonoïdes ; notre cas 4,73 ± 0,38 mEQ/g de résidu sec de l'échantillon (MD)) qui sont caractérisés par des groupements hydroxyles fortement impliqués dans l'activité anti-radicalaire (**Robards et al., 1999**).

D'après **Molyneux, 2004** ; les valeurs EC<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles à l'effet inhibiteur des radicaux libres dont les valeurs petites indiquent un potentiel anti-radicalaire important.

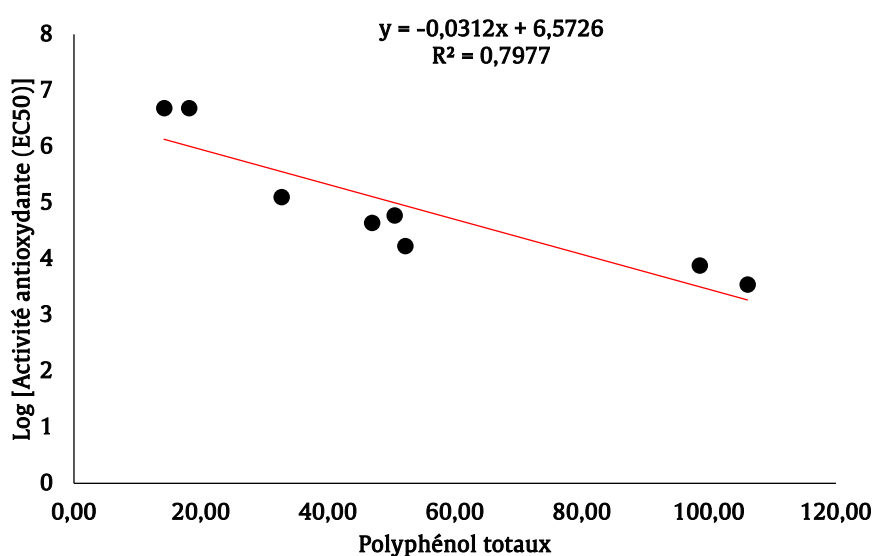
Selon **Turkmen et al., 2007**, les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**).

Nous avons trouvé une corrélation moyenne ( $R^2 = 0,797$ ) entre le pouvoir antioxydant exprime par la valeur de  $\text{Log [EC}_{50}]$  et la teneur en phénols totaux (figure 20), par contre nous n'avons pas trouvé une bonne corrélation ( $R^2 = 0,412$ ) entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïde (figure 21).

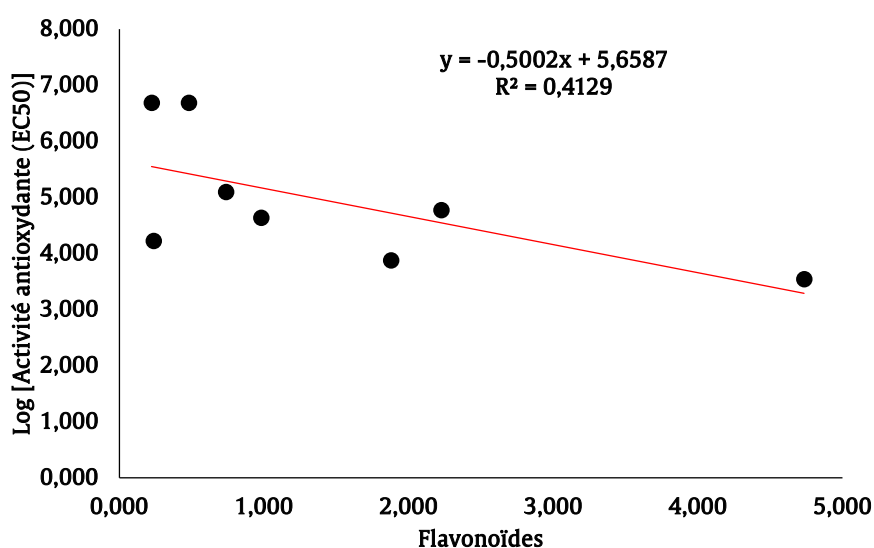
Présence de composés phénoliques dans les extraits végétaux contribue de manière significative à leur potentiel d'activité anti-oxydante. La corrélation entre les composés

phénoliques et l'activité antioxydante a été décrite dans de nombreuses études (**Anesini et al., 2008 ; Pasko et al., 2009**).

Cependant, certain auteur suggère qu'il n'y a pas de relation entre la teneur en phénols totaux et les valeurs de l'efficacité anti-radicalaire, et que cette activité n'est pas limitée aux composés phénoliques, elle peut être due à la présence d'autres antioxydants des métabolites secondaires, comme les lignanes, les alcaloïdes, les terpènes, les caroténoïdes et les vitamines (acide ascorbique) (**Javanmardi et al., 2003**).



**Figure 20 :** Représentation graphique présente la corrélation entre les polyphénols totaux et les valeurs de Log [EC50]



**Figure 21 :** Représentation graphique présente la corrélation entre les flavonoïdes et les valeurs de Log [EC50]

# Conclusion

## Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

L'objectif primordial assigné par cette étude englobe le même contexte afin d'évaluer les propriétés antioxydantes des plantes médicinales et sahariennes qui poussent dans des conditions biotiques et abiotiques stressantes. Rappelant que, l'aridité du milieu saharien par rapport aux autres endroits biologiques a développé des modifications non seulement au niveau de la morphologie mais aussi au niveau du métabolisme de la plante.

Lors de ce travail, les extraits des plantes, on fait l'objectif d'une étude détaillé, commençant par l'extraction et quantifications des composés phénoliques, ainsi que l'évaluation de l'activité de leur effet antioxydant.

Le rendement d'extraction en composés phénolique de deux plantes (*Asphodelus tenuifolius*, *Marrubium deserti*) d'une seule région que nous avons étudié, est de 0,57% et 4,49 % respectivement.

La teneur en composés phénoliques pour les différentes fractions étudiés (HEX, DCM, AcET et ACT) est varié entre  $14,16 \pm 2,82$  et  $106,05 \pm 12,17$  mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec, ainsi la teneur en flavonoïdes de nos extraits révèle une variation de  $0,22 \pm 0,07$  à  $4,73 \pm 0,38$  exprimés en mg équivalent de quercétine/g d'extrait sec .

L'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de nos échantillons présenté une activité plus élevé mais la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon (MD) et (AT) a présenté une activité plus élevé que celles des autres fractions, dont les valeurs d'EC50 (DPPH) sont  $34,53 \pm 0,71$  µg/mL (MD) et  $48,36 \pm 10,83$  µg/mL (AT).

Nous avons trouvé aussi une corrélation moyenne ( $R^2 = 0,797$ ) entre le pouvoir antioxydant exprime par la valeur de Log [EC50] et la teneur en phénols totaux, par contre

nous n'avons pas trouvé une bonne corrélation ( $R^2 = 0.412$ ) entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïde.

Cette activité est aussi remarquable par le test de réduction de fer (FRAP). Il est révélé des valeurs de TEAC hautement supérieures pour la fraction d'acétone (ACT) de l'échantillon (MD) ( $209,66 \pm 0,26$  mg Equivalent Trolox/g résidus sec) que la fraction d'acétone de l'échantillon (AT) ( $64,20 \pm 2,96$  mg Equivalent Trolox/g résidus sec).

De tous les résultats obtenus, nous avons déduit que la fraction acétone (ACT) de deux plantes présente une bonne activité antioxydante qui pourrait être utilisée dans le domaine pharmaceutique.

Nous concluons à partir de cette étude que les extraits de deux plantes constituent une source en composés phénoliques et un faible taux de flavonoïdes avec une bonne d'activité antioxydant.

En perspective, il est souhaitable d'être approfondie cette étude, afin de permettre d'isoler et de caractériser d'éventuelles nouvelles molécules naturelles responsables à cette activité et qui pourront être utilisées pour des diverses études pharmacologiques.

**Références**  
**Bibliographique**

## Références bibliographiques

## A

- 
- Abdel-Mogib, M., & Basaif, S. A. (2002).** Deux nouveaux dérivés de naphtalène et anthraquinone de tenuifolius *Asphodelus*. *Pharmazie*, 57(4), 286-287.
- Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.
- Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A.; (2004).** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, 551–562..
- Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996).** Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28 : 65-180

## B

- 
- Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food. Agric. Res. Council, Réduit, Mauritius*, 83-94.
- Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J.Pharm Pharmacol*, 2 (2): 022-028.
- Benhouhou, Salima. (2005).** *A Guide to Medicinal Plants in North Africa. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources: Centre for Mediterranean Cooperation Malaga (ESP).*
- Benzie I.F.F., Strain J.J. ; (1996).** The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- Berker, K. I., Guclu, K., Tor, I., & Apak, R. (2007).** Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72(3), 1157-1165.
- Bossokpi, I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). *Thèse de pharmacie, Bamako*, p 133.

- Bourgou S. ; Ksouri R. ; Bellila A. ; Skandrani I. ; Falleh H.; Marzouk B. (2008).** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, 331: 48–55.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B.(2003)** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4 (6), 7p.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Sci. Technol*, 28:25-30.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition,Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.). Paris: Lavoisier.
- Burton G. W., Traber M.G., Acuff R.V. et al. (1998).** Human plasma and tissue alphanatocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr*. 67, 669-684.

## C

---

- Cakatay U., Telci A., Kayali R. et al. (2000).** Effect of  $\alpha$ -lipoic acid supplementation on oxidative protein damage in the streptozotocin-diabetic rat. *Res Exp Med*. 199, 243-251.
- Cao, G.H., Alessio, H.M., Cutler, R.G. (1993).** Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med*, 14: 303-311.
- Charfi D., (1995).** Effet des eaux usées traitées sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et sur la physiologie de quelques espèces végétales cultivées au périmètre d'ElHajeb (Sfax). Thèse en écologie végétale, Fac. Sci. de Sfax.
- Chung Y-C., Chang C-T., Chao W-W., Lin C-F., Chou S-T. ; (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 2454–2458

**Chung, K., Wong, T.Y., Wei, C., Huang, Y., Lin, Y. (1998).** Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 38: 421-464.

**Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12(4): 564- 582.

**Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Black well Publishing Ltd.

## D

---

**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.

**Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.

**Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. ; (1997).** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.

**Duraffourd, C., Lapraz, J-C., & Chemli, R. (1997).** *La plante médicinale de la tradition à la science.* Paper presented at the 1er congrès Intercontinental. Tunis.

## E

---

**Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., & Yousef zadi, M. (2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*, 110, 927-931.

**Edenharder, R., Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.

**El Bardai, S., Morel, N., Wibo, M., Fabra, N., Llabres, G., Lyoussi, B., Quetin-Leclercq, J. (2003).** The vasorelaxant activity of marrubienol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Planta Medica*, 69: 75–77.

**Elqaj, M., Ahami, A., & Belghyti, D. (2007).** *La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires.* Paper presented at the Journée

scientifique "ressources naturelles et antibiotiques", Maroc.

**El-Rhaffari, L., & Zaid, A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes., 293-318.

## F

---

**Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64(2), 159-164. P3

**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.

**François, de Beaulieu., & Sandra, Le François. (Eds.). (2011).** Dictionnaire de la nature en Bretagne. SkolVreizh

## G

---

**Giner-Chavez, Bertha I. (1996).** *Condensed tannins in tropical forages.* (Doctoral Thesis), Cornell University, Ithaca, NY.

## H

---

**Hadi M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine :Pharmacochimie. 155p.

**Hale A. L. (2003).** Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate Studies of Texas A&M University.Genetics. 260p

**Hammiche et Maiza, (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol*, 105 : 358–367.

**Harborne JB et Williams CA. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, Nov; 55(6): 481-504

- Haslam,(1996)** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59: 205-215.
- Hatam, N.A.R., Porzel, A., Seifer, K. (1995).** Polyodonine a prefuranic labdane diterpene from *Marrubium polydon*. *Phytochemistry*, 40: 1575–1576.
- Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96: 67–202
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Skaltsounis, A.L., Bailleul, F. (2007).** Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Biochem. Syst. Ecol*, 35: 624-626.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.I. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J.Agric. Food Chem*, 53: 1841-1856.

## I

---

- Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., Botrel, A. (2001).** *Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins* (Larousse Ed.): Larousse. P3

## K

---

- Kahler W. et al. (1993)** “Diabetes Mellitus—A Free Radical- Associated Disease. Results of Adjuvant Antioxidant Supplementation.” *Z Gesamte Inn Med*. 48(5), 223-32.
- Kalim, Mehar., Bhattacharyya, Dipto., Banerjee, Anindita., & Chattopadhyay, Sharmila. (2010).** Activité de prévention des dommages oxydatifs à l'ADN et le potentiel antioxydant des plantes utilisées dans le système de la médecine unani. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(77).
- Karioti, A., Heilmann, J., Skaltsa, H. (2005).** Labdane diterpenes from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*. *Phytochemistry*, 66: 1060–1066.
- Krippeit-Drews P., LANG F., Haussinger D. et Drews G. (1994)** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch*. 426, 552 - 554.

- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly. C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249.

---

**L**

---

- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., & Lee, C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51(7292-7295).
- Leong, LP., Shui, G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.
- Li, C., Oldham, C.D., May, S.W.N. (1994).** N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J*, 300: 31-36.
- Li, H. B.; Wong, C. C.; Cheng, K.W.; and Chen, F. 2008.** Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT*, 41: 385-390.

---

**M**

---

- Maydani Ma. (2000)** Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 71(suppl),1665S-1668S.
- Maydani Mb. (2000)** Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr Rev*. 58, 278-281
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., & Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85, 231-237.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993).** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, 84: 407-412.

- Mitra, S. (2003).** Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. *John Wiley & Sons edition. Hoboken, New Jersey.* 162, 458p.
- Mohammedi, Zohra. (2006).** *Eude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen.* (These de Magister), Université Abou Bekr Belkaid, TLEMEN. 154.
- Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. (1998).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).
- Morel Y. et Barouki R. (1999).** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 342 (3), 481-496.
- Mukohata, Y., Nakabayashi, S., & Higashida, M. (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS Lett*, 85: 215– 218.
- Murr, Cf. J., & Baumann, H. (1984).** *Le bouquet d'Athéna : les plantes dans la mythologie et l'art grecs:* Édition française

## N

---

- Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. (2001).** Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am.J. Clin Nutr*, 74 : 418–425.
- Novelli G. P. (1997)** Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol.* 48, 517-527.

## O

---

- O’Kennedy, R., and Thornes, R.D. (ed) (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y.
- Ould El Hadj M. D., Hadj-Mahammed., M., Zabeirou, H. (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d’Ouargla (Sahara septentrional Est). *Courrier du Savoir – N°03*, 47-51

## P

---

- Packer L. et al. (1995).** “Alpha-Lipoic Acid as a Biological Antioxidant.” *Free Radical Biology and Medicine.* 19, 227-250.

- Panda K., Chattopadhyay R., Fhosh M. K. et al. (1999).** Vitamin C prevents cigarette smoke induced oxidative damage of proteins and increased proteolysis. *Free Radicals Biol Med.* 27, 1064-1079.
- Panghal, Manju., Kaushal, Vivek., & Yadav, Jaya. (2011).** In vitro antimicrobial activity of ten medicinal plants against clinical isolates of oral cancer cases. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10(21).
- Pieroni A., Janiak V., Dürr C. M., Lüdeke S., Trachsel E. et Heinrich M. (2002)** In vitro Antioxidant Activity of Non-cultivated Vegetables of Ethnic Albanians in Southern Italy. *Phytother. Res.* 16, 467–473.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J. O. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumon.* 4 (5).
- Popov, I., Lewin, G., Baehr, R. (1987).** Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: 775–779

## Q

---

- Quezel et Santa,(1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris.

## R

---

- Rahman, I., Biswas, S.K., Kirkham, P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72: 1439-1452.
- Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J. (2007).** Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chem. Toxicol*, 45: 328-336.
- Rebbas, .K. (2003).** Cours de botanique. Département de biologie, Université Mohamed BOUDIAF – M'SILA.
- Rejon, C. Ruiz., Blanca, G., Cueto, M., Lozano, R., & Rejon, M. Ruiz. (1990).** *Asphodelus tenuifolius* et *A. fistulosus* (Liliacées) sont morphologiquement et génétiquement et biologiquement différentes espèces. *Systématique et évolution végétale*, 169(1-2), 1-12.

- Rigano, D., Formisano, C., Basile, A., Lavitola, A., Senatore, F., Rosselli, S., Bruno, M. (2007).** Antibacterial Activity of Flavonoids and Phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. Libanoticum.. *Phytother Res*, 21(4): 395-7.
- Robards, K.; Prenzeler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; and Glover, W. (1999).** Phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, 11: 419-424

---

## S

---

- Safder, Muhammad.,Mehmood, Rashad., Ali, Bakhat., Mughal Uzma, Rasheed., Malik, Abdul., &Jabbar, Abdul. (2012).** Nouveaux métabolites secondaires de *Asphodelustenuifolius*. *HelveticaChimica Acta*, 95(1), 144-151.
- Samarth R.M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A.; ( 2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant Extract *Food Chemistry*, **106**, 868-873.
- Sanchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int*, 8(3): 121-137.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. (1998).** Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci. Technol. Int*, 4: 391-399.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci Food. Agric*, 76: 270–276.
- Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Harmandar, M. (2008).** Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. globosum (lamiaceae) by three different chemical assays. *Biores. Technol.*, 99:4239-4246.
- Sarkar A., Bishayee M. et Chatterjee I. B. (1995).** Beta-carotene prevents lipid peroxidation and red blood cell membrane protein damage in experimental hepato carcinogenesis. *Cancer Biochem Biophys*. 15, 111-125.
- Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.
- Scherer, R., Godoy, H.T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem*, 112: 654–658

**Senthilkumar, Annadurai., Kannathasan, Krishnan., & Venugopalan., Venkatesalu. (2009).** Antibacterial activity of the leaf essential oil of *Blumea mollis* (D. Don) Merr. *World J Microbiol Biotechnol*, 25, 1297-1300.

**Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. ; 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

**Strang, C. (2006).** *Larousse Médical*. Paris: Larousse. P2

**Svoboda K.P. et Hampson J.B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland,UK., KA6 5HW.

## T

---

**Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7: 140-146.

**Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J. ; (2007).** Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55(24), 9969-9976. Vârban D.I., Duda M., Vârban R., Muntean

## V

---

**Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

**Vermerris, W. ; and Nicholson, R. (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. *Springer Science. Netherlands*. 276p.

## W

---

**Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U. et Locke, S. (1985).** Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*, 187: 33-37.

**Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A. J., Fong, J. H., Blanchard, K. A. (1998).** A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med*, 24: 480–493

**Y**

---

**Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen,S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 : 113-122.

**Yoshida, H., Ishikawa, T., Hosoi, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., et al. (1999).** Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. *Biochem Pharmacol*, 58 : 1695–703.

**Z**

---

**Zhang, Y., Vareed, S.K., Nair, M.G. (2005).** Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sci*, 76: 1465-1472.

