

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Aboubacar Alio Ibrahim

&

ABBAS Mohamed Cherif

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

**Analyse phytochimique et étude in vitro de l'effet antioxydant de
deux plantes médicinales *Allium Sativum* et *Allium Cepa***

Déposé le 19/06/2023

Devant le Jury :

Présidente :	M ^{me} Missoun Fatiha	MCA U. Mostaganem
Examinatrice :	M ^{me} Rached Wahiba	MCA U. Mostaganem
Encadreur :	M ^{me} Amari Nesrine Ouda	MCA U. Mostaganem
Co Encadreur :	M ^{rs} Bakori Hicham	MCA U. Mostaganem

Année universitaire 2022-2023

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mes chers parents

:

*A ma très chère **mère** SALATOU et Mon très cher **père**
ABOUBACAR. Que le paradis soit votre dernière demeure.*

À

*Ma chère **tante** HALIMA et mon **oncle** SAHABI*

*J'espère Que dieu vous protège, vous garde et Mercie beaucoup pour
tout.*

À mes chers frères,

À mes chères sœurs,

A toute ma famille

*A mes ami(e)s de la promotion de master BVP
Que Dieu les sauve tous*

Ibrahim

Dédicace

À ma mère

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de ma mère BOUMEZRAG Aïcha disparu trop tôt. J'espère que je te rendrais fière.

À mon père

Tu as toujours été pour moi un père exemplaire, respectueux et honnête. Je tiens à honorer l'homme que tu es et te remercier pour ton soutien, ta générosité que tu m'as transmise tout au long de mon parcours.

À mes sœurs & Assia

Je les remercie de leur support.

Cherif

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** tout puissant et
Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience
D'accomplir ce modeste travail.*

*Nous remercions notre encadreur **Dr. Amari Nesrine Ouda**
pour avoir encadré et dirigé ce modeste travail avec une grande
rigueur*

*Scientifique pour sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance
qu'elle nous a accordée et pour son suivi régulier à l'élaboration de
ce travail ; sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont
accompagnés tout au long de notre cursus universitaire et les
techniciens des laboratoires de recherche et pédagogique de
l'université Abdel Hamid Ibn Badis dans lesquels on a travaillé.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de
mémoire.*

*C'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider
notre jury de mémoire.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin,
ont contribué à la réalisation de ce travail.*

« Merci »

Résumé

Ce travail de recherche représente une étude qualitative et quantitative sur une espèce de l'*Allium Sativum* et *Allium Cepa*. les tests préliminaires utilisées sont : Criblage phytochimiques par des test de coloration (tes qualitatifs) et les test quantitative de spectrophotométrie Test de folie ciocalteu pour quantifier les teneur en polyphénols totaux, la méthode du trichlorure d'Aluminium pour quantifier les flavonoïdes totaux. Ainsi, l'évaluation de l'activité antioxydante on utilisant les méthodes de l'oxydation du radical le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'ABTS test (2, 2'-azynobis [3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]) et le pouvoir antioxydant du fer ferrique (FRAP); avec un acide ascorbique, Trolox et l'étalon Sulfate de fer ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) comme des références synthétique successible. Les tests de quantification sont basés sur la spectroscopie ultraviolette visible. Cette étude a porté sur les différentes compositions chimiques des plantes. La quantité en polyphénols totaux des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) Correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme de l'étalon utilisé par gramme d'extrait lyophilisé respectivement $100,64 \pm 0,31$ mgEAG/g, $109,88 \pm 1,67$ mgEAG/g et $105,51 \pm 0,83$. Les résultats montrent que la quantité des flavonoides totaux en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait sont $11,24 \pm 0,3$ mg EQ/g ; $18,12 \pm 0,03$ mg EQ/g et $17,05 \pm 0,34$ mg EQ/g. Ces résultats obtenus montrent la richesse des extraits en flavonoïdes et phénols totaux. L'évaluation du pouvoir antioxydant a montré que les extraits aqueux d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) sont doté d'un pouvoir antioxydant très important à 0,5mg/ml respectivement pour les trois méthodes : $I_{\text{DPPH}}=69,33 \pm 0,44\%$, $I_{\text{DPPH}}=81,76 \pm 0,72\%$ et $I_{\text{DPPH}}=81,35 \pm 0,19\%$; $I_{\text{ABTS}}=74,37 \pm 1,25\%$, $I_{\text{ABTS}}=89,69 \pm 0,11\%$ et $I_{\text{ABTS}}=89,33 \pm 0,39\%$; $A_{\text{FRAP}}=0,79 \pm 0,08\%$, $A_{\text{FRAP}}=0,88 \pm 0,02\%$ et $A_{\text{FRAP}}=0,87 \pm 0,08\%$. Par ailleurs, une forte corrélation a été montré entre le DPPH, ABTS et le FRAP; les corrélations les plus élevée sont de ($r=0,989$ et $r=0,987$) successible. De ce fait, Cette étude confirme, scientifiquement, que les bulbes de l'ail « *Allium Sativum* », oignon « *Allium Cepa* » sont une très bonne source en substances antioxydantes, et donc très bénéfique à la santé humaine.

Mots clés : Ail, Oignon, « *Allium Sativum* », « *Allium Cepa* », criblage phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux , Activité antioxydante, DPPH, ABTS, FRAP.

Abstract

This research work represents a qualitative and quantitative study on a species of *Allium Sativum* and *Allium Cepa*. The preliminary tests used are: Phytochemical screening by coloring tests (qualitative tests) and quantitative spectrophotometry tests. Ciocalteu madness test to quantify the content of total polyphenols, the Aluminum trichloride method to quantify total flavonoids. Thus, the evaluation of the antioxidant activity using the methods of oxidation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, the ABTS test (2, 2'-azynobis [3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid]) and the antioxidant capacity of ferric iron (FRAP); with ascorbic acid, Trolox and the standard Iron Sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) as successive synthetic references. Quantification tests are based on ultraviolet visible spectroscopy. This study focused on the different chemical compositions of plants. The quantity of total polyphenols of the aqueous extracts of *Allium Cepa*, *Allium Sativum* and of the mixture (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) Corresponding were reported as the equivalent of one milligram of the standard used per gram of freeze-dried extract respectively $100.64 \pm 0.31 \text{ mgEAG/g}$, $109.88 \pm 1.67 \text{ mgEAG/g}$ and 105.51 ± 0.83 . The results show that the amount of total flavonoids in mg equivalent of quercetin per gram of extract are $11.24 \pm 0.3 \text{ mg EQ / g}$; $18.12 \pm 0.03 \text{ mg EQ / g}$ and $17.05 \pm 0.34 \text{ mg EQ/g}$. These obtained results show the richness of the extracts in flavonoids and total phenols. The evaluation of the antioxidant power showed that the aqueous extracts of *Allium Cepa*, *Allium Sativum* and the Blend (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) have a very high antioxidant power at 0.5mg/ml respectively for the three methods: IDPPH= $69.33 \pm 0.44\%$, IDPPH= $81.76 \pm 0.72\%$ and IDPPH= $81.35 \pm 0.19\%$; IABTS= $74.37 \pm 1.25\%$, IABTS= $89.69 \pm 0.11\%$ and IABTS= $89.33 \pm 0.39\%$; AFRAP= $0.79 \pm 0.08\%$, AFRAP= $0.88 \pm 0.02\%$ and AFRAP= $0.87 \pm 0.08\%$. Moreover, a strong correlation was shown between DPPH, ABTS and FRAP; the highest correlations are ($r=0.989$ and $r=0.987$) successive. As a result, this study confirms, scientifically, that the bulbs of garlic "*Allium Sativum*", onion "*Allium Cepa*" are a very good source of antioxidant substances, and therefore very beneficial to human health.

Keywords: Garlic, Onion, "*Allium Sativum*" , "*Allium Cepa*", phytochemical screening, total polyphenols, total flavonoids , Antioxidant activity, DPPH, ABTS, FRAP

ملخص

يمثل هذا العمل البحثي دراسة نوعية وكمية على نوع من *Allium Sativum* و *Allium Cepa*. الاختبارات الأولية المستخدمة هي: الفحص الكيميائي النباتي عن طريق اختبارات التلوين (الاختبارات النوعية) واختبارات القياس الطيفي الكمي. وهكذا ، فإن تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طرق أكسدة 2،2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل (DPPH) ، اختبار 2' ، 2 ، ABTS [3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid] (azynobis) والقدرة المضادة للأكسدة من الحديد (فراب) ؛ مع حمض الأسكوربيك ، ترولوكس وكبريتات الحديد القياسية $7 \text{ H}_2\text{O}$ (FeSO_4) كمراجع تركيبيّة متتالية. تعتمد اختبارات القياس الكمي على التحليل الطيفي المرئي فوق البنفسجي. ركزت هذه الدراسة على التركيبات الكيميائية المختلفة للنباتات. تم الإبلاغ عن كمية البوليفينول الكلي للمستخلصات المائية لـ *Allium Sativum* و *Allium Cepa* والمزيج (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) المقابلة كمكافئ واحد مليغرام من المعيار المستخدم لكل جرام من المستخلص المجفف بالتجميد على التوالي $100.64 \pm 0.31 \text{ mgEAG} / \text{جم}$ ، $109.88 \pm 1.67 \text{ مجم EAG} / \text{جم}$ و 105.51 ± 0.83 . أظهرت النتائج أن كمية الفلافونويد الإجمالية في ما يعادل ملغ من كيرسيتين لكل جرام من المستخلص هي $11.24 \pm 0.3 \text{ مجم EQ} / \text{جم}$ ؛ $18.12 \pm 0.03 \text{ مجم EQ} / \text{جم}$ و $17.05 \pm 0.34 \text{ مجم EQ} / \text{جم}$. تظهر هذه النتائج التي تم الحصول عليها ثراء المستخلصات في مركبات الفلافونويد والفينولات الكلية. أظهر تقييم قوة مضادات الأكسدة أن المستخلصات المائية لـ *Allium Cepa* و *Allium Sativum* والمزيج (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) لها قوة عالية جداً من مضادات الأكسدة عند $0.5 \text{ مجم} / \text{مل}$ على التوالي للطرق الثلاث: $\text{IDPPH} = 81.76$ ، $\text{IDPPH} = 69.33 \pm 0.44\%$ ، $\text{IABTS} = 89.33$ و $\text{IABTS} = 74.37 \pm 1.25\%$ ، $\text{IABTS} = 89.69 \pm 0.11\%$ ؛ $\text{IDPPH} = 81.35 \pm 0.19\%$ و 0.72% ؛ $\text{AFRAP} = 0.88 \pm 0.02\%$ ، $\text{AFRAP} = 0.79 \pm 0.08\%$ و $\text{AFRAP} = 0.87 \pm 0.08\%$. علاوة على ذلك ، ظهر ارتباط قوي بين DPPH و ABTS و FRAP. أعلى الارتباطات هي ($r = 0.987$ و $r = 0.989$) متتالية. ونتيجة لذلك تؤكد هذه الدراسة علمياً أن بصيالات الثوم "*Allium Sativum*" والبصل "*Allium Cepa*" هي مصدر جيد جداً للمواد المضادة للأكسدة ، وبالتالي فهي مفيدة جداً لصحة الإنسان.

الكلمات الرئيسية: الثوم ، البصل ، "*Allium Cepa*" ، "*Allium Sativum*" ، الفحص الكيميائي النباتي ، إجمالي البوليفينول ، إجمالي الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، FRAP ، ABTS ، DPPH

Liste des figures

Figure 1 : Différentes parties de la plante d'oignon.	14
Figure 2 : Répartitions géographique d' <i>Allium Cepa</i> .	15
Figure 3 : Ail cultivé.	20
Figure 4 : Origine géographique d' <i>Allium Sativum</i> .	21
Figure 5 : Mécanisme de dé-oxydation.	27
Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	32
Figure 7 : <i>Allium cepa</i> rouge et <i>Allium Sativum</i> rouge utilisé au laboratoire.	37
Figure 8 : Extraits lyophilisé d' <i>Allium Sativum</i> , d' <i>Allium Cepa</i> et du Mélange	38
Figure 9 : Protocole du dosage des phénols totaux.	46
Figure 10 : Protocole du dosage des flavonoïdes.	47
Figure 11 : Protocole de dosage de DPPH.	49
Figure 12 : Protocole de dosage d'ABTS.	51
Figure 13 : Protocole de dosage de FRAP.	53
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	58
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.	59
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH d' <i>Allium Cepa</i> .	60
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH d' <i>Allium Sativum</i> .	61
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH d' <i>Allium cepa</i> et <i>Allium sativum</i> .	61
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de l'acide ascorbique.	62
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS d' <i>Allium Cepa</i>	63
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS+ d' <i>Allium Sativum</i>	64
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS d' <i>Allium Cepa</i> et <i>Allium Sativum</i>	64
Figure 23 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS de Trolox.	65
Figure 24 : Absorbance de FRAP de l'extrait d' <i>Allium Cepa</i> .	66
Figure 25 : Absorbance de FRAP d' <i>Allium Sativum</i> .	66
Figure 26 : Absorbance de FRAP d' <i>Allium Cepa</i> et <i>Allium Sativum</i> .	67
Figure 27 : Absorbance de FRAP de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	67

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des principales familles de métabolites primaires.	7
Tableau 2 : Liste des principales familles de métabolites secondaires.	7
Tableau 3 : La classification scientifique de <i>l'allium CEPA</i> .	13
Tableau 4 : Composition chimique <i>d'Allium CEPA</i> .	15
Tableau 5 : La classification scientifique de <i>l'allium SATIVUM</i> .	17
Tableau 6 : Composition <i>d'Allium SATIVUM</i> frais.	19
Tableau 7 : Principaux modes d'action de quelques antioxydants.	28
Tableau 8 : Rendement d'extraction des <i>d'Allium Cepa</i> , <i>d'Allium sativum</i> et du Mélange.	52
Tableau 9 : Résultats des tests phytochimiques <i>d'Allium Cepa</i> , <i>Allium sativum</i> et du Mélange.	53
Tableau 10 : Les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes <i>d'Allium Cepa</i> , <i>Allium Sativum</i> et du Mélange.	55
Tableau 11 : Concentration d'inhibition IC50 <i>d'Allium Sativum</i> , <i>Allium Cepa</i> et du mélange Vis-à-vis du DPPH, ABTS et de FRAP.	63
Tableau 12 : Les coefficients de corrélation entre l'activité antioxydant et des extraits <i>d'Allium Cepa</i> et <i>d'Allium Sativum</i> du mélange.	64

Liste des abréviations

ABTS	2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AC	Allium Cepa
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosineadénosine diphosphate
ALT	Alanine aminotransférase
ALT	Alanine aminotransférase
AST	Aspartate aminotransférase
ASV	Allium Sativum
CCl4	Tétrachlorure de carbone
CHCl3	Chloroforme
Cu²⁺	Ion cuivrique
DPPH	1,1 diphényl-2-picrylhydrazyle
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
Fe²⁺	Ions Ferreux
Fe³⁺	Ions Ferriques.
FeCl3	Chlorure ferrique
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
G6PD	Glucose-6-phosphate-déshydrogénase
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion-disulfure

H2O2	Péroxyde d'hydrogène
H2S	Sulfure d'hydrogène
H2SO4	Acide sulfurique
H3Mo12O40	Acide phosphotungstique
P	
HCL	Acide Chlorhydrique.
HCMV	Human Cytomegalovirus
HDL	High density lipoprotein
IC50	Concentration d'inhibition à 50%
Idm	Indice de mousse
Kcal	Kilocalorie
KOH	Hydroxyde de potassium
LDL	Low density lipoprotein
NF-kappa B	Nuclear factor κB
NH4OH	Ammoniac
Nm	Nanomètre
NO	Oxyde nitrique
O2	Radical superoxide
OH	Radical hydroxyle
PMB	Polymyxine B
RL	Radical libre
RLs	Les radicaux libres
ROS	Reactive oxygen species
SbCl3	Trichlorure d'antimoine
SOD	Superoxyde dimutase

TCE Teneur en composés extractibles

TPTZ 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine

UV Ultraviolet

W8O23 Oxydes bleus de tungstène

**µg EAG/Mg
d'extrait** Microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

**µg EQ/Mg
d'extrait** Microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait.

TABLE DE MATIÈRE

Chapitre I la phytothérapie

I. La phytothérapie.....	2
I.1.Historique.....	3
I.2.Definition de la phytothérapie.....	6
I.3.Métabolites des plantes médicinales.....	7
I.4.Les métabolites primaire.....	7
I.5.Les métabolites secondaire.....	8
I.5.1Les polyphénols.....	8
I.5.2Les composés soufré.....	9
I.5.3.Les terpènes.....	10
I.5.4Les alcaloïdes.....	10
I.6.Les avantage de la phytothérapie.....	10

Chapitre II *Allium Cepa* et *Allium Sativum*

II. <i>Allium Cepa</i> et <i>Allium Sativum</i>	13
II.1. <i>Allium Cepa</i>	13
II.1.1. Généralité sur <i>Allium Cepa</i>	13
II.1.1.1. Description Botanique.....	13
II.1.1.2Classification.....	14
II.1.1.3Origine.....	14
II.1.1.4Composition chimique.....	16
II.1.1.5Activités Biologiques	18
II.1.1.5.1Activité antidiabétique.....	18
II.1.1.5.2Activité antibactérienne.....	18
II.1.1.5.3Activité anti-cancérigène et anti-mutagénique.....	18
II.1.1.5.4Anti-agrégante plaquettaire.....	18
II.2. <i>Allium Sativum</i>	19

II.2.1. Généralité sur <i>Allium Sativum</i>	19
II.2.2. Classification d'Allium Sativum	19
II.2.3. Description botanique	20
II.2.4. Origine	21
II.2.5. Composition chimique	21
II.2.6. Activités Biologique d'allium Sativum	22
II.2.6.1. Propriétés préventives vis-à-vis du cancer	22
II.2.6.2. Activité antimicrobien et antiparasitaire	22
II.2.6.3. Activité antioxydante	23
II.2.6.4. Activité inhibitrice de l'agrégation plaquettaire	23
II.2.6.5. Activité Antidiabétique	23
II.2.6.6. Activité anti-hypertensive.....	24
II.2.6.7. Effet hypocholestérolémiant.....	24
II.2.6.8. Effet sur la digestion.....	24

Chapitre III Les antioxydants

III. Les Antioxydant.....	26
III.1. Définition d'un Antioxydant	26
III.2. Mécanisme d'action	26
III.3. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action.....	27
III.4. Classification des antioxydants suivant la nature chimique	28
III.4.1. Les antioxydants naturels	28
III.4.2. Les antioxydants enzymatiques	28
III.4.3. Les antioxydants non enzymatiques	29
III.5. Définition des radicaux libres.....	30
III.6. Principaux radicaux	31
III.6.1. Anion -radical superoxyde ($O\cdot 2$)	31
III.6.2. Peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2)	31
III.6.3. Le radical hydroxyle ($HO\cdot$)	32
III.6.4. Oxyde nitrique ($NO\cdot$)	32
III.7. Le stress oxydatif	33
III.8. Origine du stress	33

Chapitre IV Matériels et Méthodes

IV.	Matériels et méthode.....	36
IV.1.	Matériels.....	36
IV.1.1.	Matière végétale	37
IV.2.	Méthode.....	38
IV.2.1.	Extraction de la matière végétale.....	38
IV.2.2.	Echantillonnage.....	38
IV.2.3.	Analyses qualitatives.....	39
IV.2.3.1.	Screening phytochimique	39
IV.2.3.1.1.	Flavonoïdes	39
IV.2.3.1.2.	Stérols et triterpènes	40
IV.2.3.1.3.	Caroténoïdes.....	40
IV.2.3.1.4.	Tanins.....	40
IV.2.3.1.5.	Saponosides	41
IV.2.3.1.6.	Coumarines	41
IV.2.3.1.7.	Anthocyanes.....	41
IV.2.3.1.8.	Proanthocyanidols.....	41
IV.2.3.1.9.	Quinones	42
IV.2.3.1.10.	Mucilages	42
IV.2.3.1.11.	Oses et holosides	42
IV.2.3.1.12.	Composés réducteurs	42
IV.2.3.1.13.	Stupéfiants	43
IV.2.3.1.14.	Protéines	43
IV.2.3.1.15.	Hétérosides cardiotonique.....	43
IV.2.3.1.16.	Hétérosides cyanogénique.....	43
IV.2.3.1.17.	Dérivés anthracéniques.....	44
IV.2.3.1.18.	Alcaloïdes	45
IV.2.4.	Analyses quantitatives.....	45
IV.3.2.1.	Détermination de la teneur en polyphénol totaux	46
IV.3.2.2.	Détermination de la teneur en flavonoïdes.....	47
IV.3.2.3.	Capacité antioxydant déterminée par le diphényle-1- picrylhydrazyl	48
IV.3.2.4.	Capacité déterminée par le dosage des cations radicaux ABTS... ..	49
IV.3.2.5.	Capacité antioxydante déterminée par le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	51
IV.2.5.	Analyses statistiques.....	54

CHAPITRE V

V. Résultats et Discussion.....	56
V.1. Résultats.....	56
V.1.1. Rendement de l'extraction.....	56
V.1.2. Screening phytochimique	56
V.1.3. Teneur en phénols totaux	58
V.1.4. Teneur en flavonoïdes	58
V.1.5. Test de piégeage du radical libre DPPH	59
V.1.6. Test de la réduction ABTS	62
V.1.7. Test de la réduction du fer (FRAP).....	65
V.1.8. Corrélation de DPPH, ABTS et le FRAP	68
V.2. Discussion.....	71
Conclusion.....	76

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies (**Abedini, 2014**).

La connaissance des plantes et l'étude de leurs propriétés, leurs effets thérapeutiques se révèlent une nécessité primordiale, pour découvrir de nouveaux principes actifs pouvant annoncer une révolution de la médecine (**Chebaibi et al., 2016**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes (**Abedini, 2014**).

Allium Cepa est une plante très utilisée en cuisine, elle fait par ailleurs pleurer, suite à une teneur importante en dérivé soufré (à cause d'un sulfoxyde). En phytothérapie, on peut toutefois noter son utilisation sous forme de remède naturel lors de piqûres d'insectes ou en cas d'allergie. Dans son indication lors d'excès de cholestérol, on préférera en général l'ail (aussi riche en alliline). Cette plante est très utilisée en homéopathie, nommée par son nom latin ou binomial. Principalement utilisée lors d'allergie, de sinusite ou de rhume des foins (**Escop, 2003**).

Depuis des siècles, l'*Allium Sativum* est à la fois un aliment essentiel dans de nombreuses traditions culinaires et une plante utilisée en phytothérapie. Proposé principalement pour préserver la santé des vaisseaux sanguins en luttant contre l'excès de cholestérol et l'hypertension artérielle. *Allium Sativum* est une plante cultivée et consommée depuis plus de 5 000 ans. De tout temps, il a été considéré comme une panacée : dans la Rome antique, Pline l'Ancien dénombrait soixante et une maladies soignées par l'ail. Avant la découverte des antibiotiques, les gousses d'ail écrasées étaient utilisées comme antiseptique dans le traitement des plaies. (**The Complete German Commission E Monographs, 1998**).

La recherche incessante de nouveaux médicaments à partir de plantes a conduit à la découverte de nombreux métabolites avec un potentiel de développement de médicaments par

Les antioxydants naturels sont largement distribués dans les plantes alimentaires et médicinales. Ces antioxydants naturels, en particulier les polyphénols et les caroténoïdes, présentent une large gamme d'effets biologiques, y compris anti-inflammatoires, anti-âge, anti-athérosclérose et anticancéreux. L'extraction efficace et l'évaluation appropriée des antioxydants des Plantes comestibles et médicinales sont essentielles pour explorer les sources potentielles d'antioxydants et promouvoir l'application dans les aliments fonctionnels, les produits pharmaceutiques et les additifs alimentaires (Ping et al., 2017).

L'objectif de ce travail vise à démontrer la richesse de L'oignon commun (*Allium Cepa* L.) et L'ail (*Allium Sativum*) en composés phénoliques (Polyphénols et Flavonoïdes) et à déterminer leurs propriétés antioxydantes par différentes méthodes.

- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- Décoloration du radical cation ABTS⁺
- Réduction du Fer : Ferric reducing antioxidant power FRAP

La première partie consacrée à l'étude bibliographique est divisée en trois chapitres :

- Le premier chapitre concerne la phytothérapie.
- Le deuxième chapitre c'est une Généralité sur *Allium Cepa* et *Allium Sativum*.
- Le troisième chapitre est consacré sur les antioxydants.

La deuxième partie, divisée en deux chapitres le premier présente le matériel et les méthodes utilisés. Quant au deuxième chapitre, traite les résultats et la discussion de chaque expérimentation de travail.

CHPITRE I
LA PHYTOTHERAPIE

I. La phytothérapie

I.1 Historique

L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives. La ligne de démarcation entre les propriétés nutritives et les propriétés curatives n'est pas toujours très nette (**Iserin et al., 2001**).

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

Le premier texte sur la médecine par les plantes a été gravé sur des plaques d'argile par les Sumériens, environ 3 000 ans avant Jésus Christ. Ils utilisaient des plantes telles le myrte, le chanvre et le thym. L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures on a toujours compté sur les valeurs curatives des plantes pour soigner et guérir les hommes. Certaines cultures – notamment en Chine et en Inde – perpétuent depuis des siècles une longue tradition d'herboristerie, tandis qu'en Europe et Amérique du Nord, sa popularité fut plus fluctuante face à la médecine conventionnelle.

I.2 Définition de la phytothérapie

La phytothérapie, du mot grec "pluton" plante et "therapeia" traitement, signifie traitement par les plantes (**Chabrier, 2010**).

C'est une pratique très ancienne, qui consiste à l'utilisation des propriétés pharmacologiques des plantes médicinales grâce aux nombreux et divers principes actifs qu'elles renferment (**Iserin et al., 2001**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter différentes maladies. Elles peuvent être source de nouvelles molécules bio-médicaments. Cependant,

l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de Santé. (**Babali, 2012**).

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Ainsi, Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes (**Dibong et al., 2011**).

L'Algérie par son climat (méditerranéen, aride) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état spontané. La valorisation des plantes médicinales et aromatiques est un domaine particulièrement intéressant à développer car c'est une source de produits à haute valeur ajoutée (**Felidj et al., 2010**).

I.3 Métabolites des plantes médicinales

IV.4.1.

Le règne végétal produit collectivement des centaines de milliers de molécules organiques de faible poids moléculaire traditionnellement appelées métabolites secondaires. Ces métabolites ont été largement utilisés tout au long de l'histoire de l'humanité comme médicaments, épices, parfums, cosmétiques et agents antiparasitaires, ainsi que dans les rituels religieux et culturels (**Gaurav et al., 2015**).

Au cours des 150 dernières années, l'accent a été mis sur la documentation de la diversité chimique des métabolites secondaires dans le règne végétal, conduisant à la découverte de diverses classes de composés tels que les terpènes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les phénylpropanoïdes, les glucosinolates et les polycétides. Ces composés secondaires étaient historiquement différenciés des produits du métabolisme primaire, tels que les sucres, les acides aminés, les acides nucléiques et les acides gras, comme étant non essentiels à la survie des plantes (**Gaurav et al., 2015**).

Les constituants du métabolite des végétaux ont été classés en deux catégories de métabolites en fonction de leur rôle au sein de l'organisme : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Fernandez, 2019**).

I.4 Les métabolites primaires

Le métabolisme primaire comprend tous les constituants du végétal qui sont indispensables à sa reproduction, à son développement et à son bon état de fonctionnement (métabolisme général). Ces métabolites sont cités dans le tableau 1.

Tableau 1 : Liste des principales familles de métabolites primaires (Fernandez, 2019).

Famille de métabolites	Exemples de composés
Lipide	Acides gras, phospholipides, glycérides
Saccharides	Monosaccharides, oligosaccharides et polysaccharides
Dérivé Aminé	Acides aminés libres, peptides, protéines
Vitamines	Vitamines A , B1, C, D3 , K

I.5 Les métabolites secondaires

IV.4.2.

La production des métabolites secondaires par les plantes est considérée comme une capacité d'adaptation pour faire face aux contraintes stressantes dans un environnement de croissance difficile et changeant qui peut impliquer la production de types chimiques complexes et d'interactions dans la stabilisation structurelle et fonctionnelle par le biais de processus et de voies de signalisation. (Tab.2)

Un grand nombre de molécules secondaires sont biosynthétisées à partir de métabolites primaires et accumulées dans les cellules végétales (Mollavali et al., 2017).

Tableau 2: Liste des principales familles de métabolites secondaires (Fernandez, 2019).

Famille des Métabolites	Exemple des composé
Polyphénols	Flavonoïdes, Anthraquinones, Acides cinnamiques, Coumarines, Xanthonés ...
Terpènes	Monoterpènes, Iridoïdes, Diterpènes, Triterpènes, Saponosides, ...
Composés soufrés	Thiosulfates, Glucosinolates, Sulfoxydes, ...
Alcaloïdes	Isoquinoléines, Pyrrolizidines, Indoliques, Bases puriques, ...

I.5.1 Les polyphénols

IV.4.3.

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

maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (**Achat, 2013**).

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques hydroxylées connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à une infection. L'intérêt récent pour ces substances a été stimulé par les bienfaits potentiels pour la santé découlant des activités antioxydantes de ces composés polyphénoliques. Les groupes hydroxyle fonctionnels des flavonoïdes médient leurs effets antioxydants en piégeant les radicaux libres et / ou en chélatant les ions métalliques. La chélation des métaux pourrait être cruciale dans la prévention de la génération de radicaux qui endommagent les biomolécules cibles. En tant que composant diététique, les flavonoïdes sont situés dans le noyau des cellules mésophylles et dans les centres de génération de reactive oxygen species (ROS). Ils régulent également les facteurs de croissance des plantes comme l'auxine. Des gènes biosynthétiques ont été assemblés dans plusieurs bactéries et champignons pour améliorer la production de flavonoïdes. Les fonctions des flavonoïdes dans les plantes et leur production microbienne ont également été décrites (**Kumar et Abhay., 2013**).

I.5.2 Les Composés soufrés

Les composés contenant du soufre constituent un groupe important en raison de leur abondance et de leur impact aromatique. Le soufre est un élément essentiel présent en particulier dans deux acides aminés : la cystéine et la méthionine. Les produits de décomposition de ces molécules organiques sont des constituants volatils d'hydruure et d'alkyl-soufre tels que les thiols, les sulfures. Le soufre contient des particules de faible poids moléculaire qui sont communes dans la nature, des bactéries aux plantes, aux champignons et aux animaux, jouant un rôle essentiel dans la biologie des cellules. En effet, les atomes de soufre peuvent être impliqués dans une grande variété de réactions en raison de leurs propriétés chimiques uniques, comme le nombre élevé d'états d'oxydation qui peuvent former différents *chénotypes* avec différentes fonctions, y compris l'activité redox, la liaison aux métaux et la catalyse. (**Kremr et al., 2015**).

I.5.3 Les terpènes

Les terpènes, également connus sous le nom d'*isoprénoïdes*, constituent le groupe le plus grand et le plus diversifié de composés naturels que l'on trouve principalement dans les plantes, mais des classes plus importantes de terpènes tels que les stérols et le *squalène* peuvent être trouvées chez les animaux. Ils sont responsables du parfum, du goût et du pigment des plantes. En général, les terpènes présentent des activités cytotoxiques contre un large éventail d'organismes, allant des bactéries et champignons aux insectes et vertébrés et ont été largement utilisés en phytothérapie contre les infections. De nombreux terpènes sont même efficaces contre les virus à membrane. Les terpénoïdes sont largement présents dans les extraits de plantes médicinales (**Joshee et al., 2019**).

I.5.4 Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes font partis des métabolites secondaires les plus actifs et largement distribués dans le règne végétal (en particulier chez les angiospermes). Leurs structures contiennent un ou plusieurs atomes d'azote soit dans une structure cyclique (vrais alcaloïdes) soit dans une chaîne latérale (pseudoalcaloïdes).

Les alcaloïdes sont tristement célèbres en tant que toxines animales et servent certainement principalement de produits chimiques de défense contre les prédateurs (herbivores, carnivores) et dans une moindre mesure contre les bactéries, les champignons et les virus. Les cibles moléculaires des alcaloïdes et des amines sont souvent des neurorécepteurs, ou elles modulent d'autres étapes de la transduction du signal neuronal, y compris les canaux ioniques ou les enzymes, qui absorbent ou métabolisent les neurotransmetteurs ou les seconds messagers. D'autres alcaloïdes sont mutagènes en ce qu'ils intercalent ou alkylent l'ADN. Plusieurs alcaloïdes qui interfèrent avec l'ADN, les télomères, la télomérase, la topoisomérase, le cytosquelette ou la biosynthèse des protéines induisent l'apoptose (**Wink, 2015**).

I.6 Les avantages de la phytothérapie

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable.

- La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique. Achat sans ordonnance.

- Ils sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé.
- La phytothérapie et les remèdes sont plus efficaces que la médecine allopathique pour certains maux.
- La médecine chimique prescrit par un pharmacien pourrait avoir certains effets secondaires négatifs. Cependant, la plupart des herbes médicinales et les remèdes n'ont pas d'effets secondaires négatifs. Le cas échéant, ils sont plus doux que la médecine allopathique.
- La phytothérapie peut être utilisée efficacement pour le processus de détoxification du corps naturel.
- La phytothérapie, qui inclut des herbes telles que le gingembre, le poivron, l'ail et agripaume aider à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que l'hypertension artérielle, les ulcères variqueux et ainsi de suite. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées **(Ben Moussa, 2007)**

CHAPITRE II

ALLIUM CEPA ET ALLIUM SATIVUM

II. Allium Cepa et Allium Sativum**IV.4.4.****IV.4.5.**II.1 *Allium Cepa***IV.4.6.**II.1.1 Généralité Sur *Allium Cepa*

L'oignon est un aromate universel, consommé dans toutes les régions du monde. Il en existe plusieurs variétés, dont certaines sont particulièrement riches en antioxydants. L'oignon fait partie de la grande famille des alliacés et, tout comme l'ail, on lui attribue certaines propriétés bénéfiques pour la santé. Côté cuisine, il est un ingrédient incontournable et se retrouve dans de nombreuses spécialités culinaires bien Algérienne (**Van der Meer, 1993**).

II.1.2 Description Botanique

L'oignon est une espèce herbacée, vivace par son bulbe unique (composé des bases épaissies des feuilles s'enveloppant les unes dans les autres), cultivée comme une annuelle ou bisannuelle. C'est une plante haute de 60 à 100 cm, dont les feuilles de couleur verte sont cylindriques, creuses (ce qui distingue cette espèce du poireau et de l'ail, autres espèces cultivées appartenant aussi au genre (*Allium*)).

La tige florale dressée est également creuse avec un renflement vers sa base. Le bulbe est relativement gros, de forme sphérique, parfois plus ou moins aplati. Les fleurs sont petites (de 4 à 5 mm de large), de couleur blanche ou verte, regroupées en une ombelle sphérique, en position terminale sur la tige (**Fig.1**). Les fleurs ont une symétrie trimère, à trois sépales, trois pétales et six étamines. L'ovaire unique est divisé en trois loges. Le fruit est une capsule s'ouvrant par trois valves, libérant chacune généralement deux graines. Chez certaines variétés, il arrive que des bulbilles se développent à la place des fleurs (**Hamdini, 2009**).



Figure 1 : Les différentes parties de la plante d'oignon. 1. Bulbe ; 2. Feuilles ; 3. Racines ; 4. Hampe florale qui porte les inflorescences à son sommet (**Rabiou et al, 2015**)

II.1.3 Classification

Tableau 03 : La Classification scientifique d'*Allium Cepa* (**Cronquist, 1981**).

Classification

règne	<i>Plantae (plante)</i>
Sous-règne	<i>Viridiaeplantae</i>
Division	<i>Tracheophyton</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Angiosperme</i>
Ordre	<i>Asparagales</i>
Famille	<i>Amaryllidaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Cepa</i>

II.1.4 Origine

A son origine, l'oignon est issu d'une espèce sauvage qui aujourd'hui n'existe plus dans la nature. C'est une plante potagère qui de nos jours n'est connue que sous forme cultivée. Cette plante originaire d'Asie centrale et de Palestine est l'un des premiers légumes cultivés par l'homme (depuis 5000ans). Il apparaît dans toutes les civilisations avec différentes

interprétations : dans l'ancienne Chine il était le symbole de l'intelligence, il est cité dans la Bible et les Egyptiens le donnaient en offrande aux dieux.

Depuis la Préhistoire, les oignons sont cultivés mais comme ils donnent mauvaise haleine, il s'agissait d'un aliment vulgaire et c'était surtout la classe ouvrière qui le consommait. Ce sont les romains qui en conquérant la majeure partie de l'Europe ont contribué au développement de l'oignon dans la culture occidentale et ils l'utilisaient pour les longs voyages car c'est un légume qui se conserve longtemps. Ensuite, il a été introduit par Christophe Colomb en Amérique lors de son second voyage en 1493. Aujourd'hui, l'oignon est cultivé un peu partout dans le monde mais il est surtout présent dans les zones tempérées (**Hamdini, 2009**).

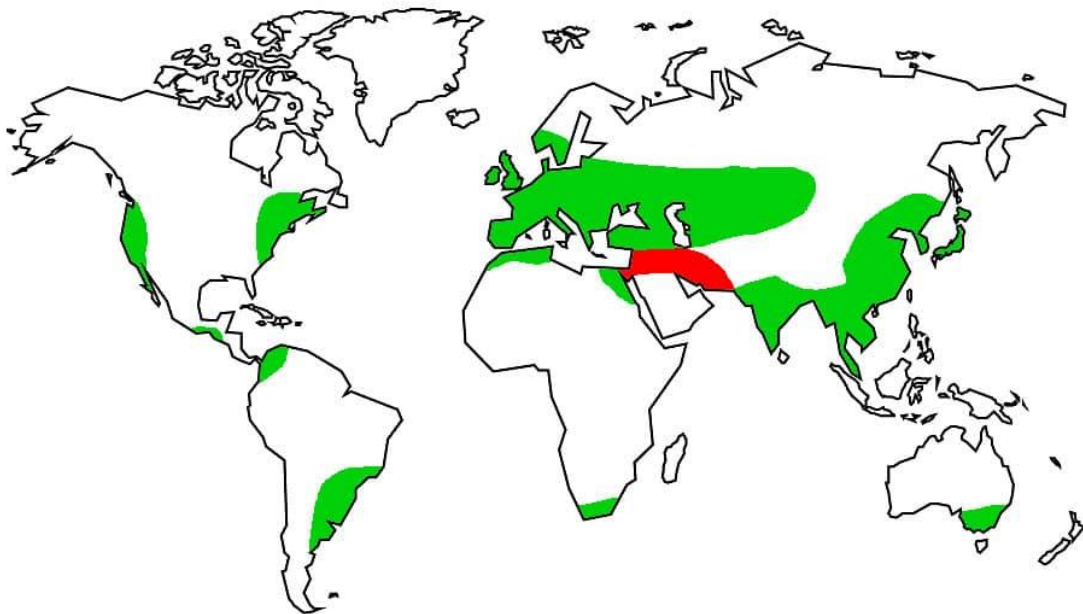


Figure 02 : Répartition Géographique d'*Allium Cepa* (**Heidelberg,1950**). ● Origine.

II.1.5 Composition chimique

Cette espèce est connue pour contenir de nombreuses compositions phytochimiques (**Tab.5**), tels que les caroténoïdes, copalènes, flavonoïdes, minéraux, phénoliques, composés organosulfurés, phytoestrogènes, terpénoïdes, vitamines, anthocyanes et acides aminés. (**Ouyang et al., 2018**).

L'oignon (*Allium Cepa*) est l'une des sources végétales les plus importantes de polyphénols en raison de sa forte teneur en flavonoïdes. Parmi les flavonoïdes de l'oignon, la quercétine et ses glucosides représentent 70% des flavonoïdes totaux des oignons. Les autres flavonoïdes présents en faible quantité sont le kaempférol, la rutine et leurs dérivés (Hossain *et al.*, 2018).

Tableau 5 : Composition chimique d'*Allium Cepa* (Ouyang *et al.*, 2018)

Composants	(g)	Vitamines	(mg)	Minéraux	(mg)
Glucides	7,10	Vitamines A (carotène)	0,010	Calcium	25,00
Lipides	0,20	Vitamines B1 (Thiamine)	0,060	Magnésium	10,00
Eau	9,00	Vitamines B2 (Riboflavine)	0,020	Soufre	50,00
Protides	1,30	Vitamines B3 (Nicotinamide)	0,300	Sodium	6,00
Fibre alomentaire	2,10	Vitamines B5 (acide Panothénique)	0,110	Chlore	25,00
		Vitamines B6 (pyridoxyne)	0,140	Bore	0,170
		Vitamines B9 acide Folique)	0,020	Fer	0,300
		Vitamines E (tocophérole)	1,140	Cuivre	0,050
		Vitamines C (acide ascorbique)	7,00	Zinc	0,200
				Nickel	0,002
				Cobalt	0,013
				Chrome	0,001
				Molybdène	0,001
				Fluor	0,040
				Iode	0,002
				Sélénium	0,003
				Phosphore	33,0

IV.4.7.

IV.4.8.

IV.4.9.

IV.4.10.

II.1.6 Activités Biologiques

II.1.5.1 Activité antidiabétique

L'évaluation de l'activité hypoglycémiant chez les patients diabétiques de type 1 et de type 2, ayant reçu de l'extrait brut d'*Allium Cepa* (100g) a entraîné : Chez les patients diabétiques de type 1 une baisse de la glycémie à jeun par environ 89 mg / dl par rapport contre 145 mg / dl pour l'insuline. Chez les patients diabétiques de type 2 une baisse la glycémie à jeun de 40 mg / dl contre 81mg/dl au *glibenclamide*. Donc, il pourrait être utilisé comme un supplément diététique en matière de gestion de type 1 et / ou le diabète de type 2 (**Eldin et al., 2010**).

L'extrait éthanolique de pelure d'oignon a donné forte activité inhibitrice *α-glucosidase*. L'activité inhibitrice de *α-glucosidase* de l'extrait l'oignon est corrélé à la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'extrait. Ces résultats suggèrent que l'oignon qui a une haute teneur en *quercétine* a le potentiel de contribuer en tant que complément alimentaire pour contrôler l'hyperglycémie et les complications du diabète lié au stress oxydatif (**Kim et al., 2010**).

II.1.5.2 Activité antibactérienne

Les extraits d'oignon ont donné une activité inhibitrice sur *Streptococcus Mutans* et *Streptococcus Sobrinus*, les principales bactéries causales de la carie dentaire, et *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*, considérés comme les principales bactéries causales de parodontite de l'adulte *Staphylococcus aureus*, *Salmomella enteritidis* et trois champignons, *Aspergillus niger*, *Penicillium* et *cyclopium*, *Fusarium oxysporum* (**Benkeblia, 2000**).

II.1.5.3 Activité anti-cancérigène et anti-mutagénique

L'extrait méthanolique de l'oignon blanc en concentration de 1000 mg/ml a donné une activité anti-proliférative sur les cellules cancéreuses humaines (**Perchellet et al., 1990**).

II.1.5.4 Anti-agrégante plaquettaire

Selon **Jung et al., 2002** l'extrait aqueux de l'oignon a induit un effet *antithrombotique* chez le rat diabétique. **Makheja et Bailey 1990** ont indiqué que les polysulfures, trisulfures particulièrement diméthyle et diallyle, trouvés dans des extraits d'oignon ont inhibé la synthèse de *thromboxane* dans les plaquettes.

II.2. *Allium Sativum*

II.2.1 Généralité sur *Allium Sativum*

L'Algérie est un des pays disposant d'un important réservoir de plantes phytothérapeutiques. Ces derniers s'occupent une place importante dans la thérapie de la population algérienne, Grâce à leurs propriétés préventives et curatives à l'égard des maladies humaines et à leur exploitation dans différents usages, notamment la fabrication des médicaments.

Parmi les plantes médicinales qui ont acquis une grande importance, On nomme l'ail cultivé (*Allium Sativum*). Ce dernier a été étudié par plusieurs auteurs (environ 7000 travaux publiés). Les études sont basées sur ses substances bioactives et leur mode d'emploi, et ses propriétés phytothérapeutiques comme les activités antitumorales, antibactériennes et anti-oxydants, qui ont été attribuées aux extraits d'ail. L'*Allium Sativum* est une plante médicinale par excellence, elle est non nocive pour la santé humaine avec un usage modéré. (Khadri, 2009)

II.2.2 Classification d'*Allium Sativum*

La classification traditionnelle de l'ail, distingue les cultivars selon des critères morphophysiologiques (Tab.7) en fonction de leur période de végétation et de la couleur de la tunique des bulbes et des bulbilles (Toul et al., 2015).

Tableau 7 : La Classification scientifique d'*Allium Sativum* (Toul et al., 2015).

Classification	
règne	Plantae (plante)
Sous-règne	Trachéophyte
Division	Magnoliophyta
Classe	Monocotyledonae
Sous-classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae ou Liliacées
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium sativum</i>

II.2.3 Description botanique

Il s'agit d'une plante herbacée, vivace par l'intermédiaire d'un bulbe ou « tête d'ail » ou « drogue ». Elle a une odeur caractéristique, et une forme arrondie ou ovale, d'un diamètre

d'environ 4 cm, constitué d'un plateau dur formé de cailleux « gousses » en nombre de 8 à 20 (Tescher et al., 2005).

Ces gousses rassemblent 12 à 16 bulbilles. Elles ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe (Fig.3). Ses feuilles sont linéaires, engainantes à limbe allongé, plat, étroit, atténué, en pointe. Elles mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. (Bernice, 2009). Et sa tige est cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, Elle peut atteindre 50 cm de hauteur (Girre, 1980). Elle se termine par des fleurs (Bruneton, 1999).



Figure 3 : L'ail (*Allium Sativum*) cultivé (Mol Mutagen, 2009)

II.2.4 Origine

L'ail est originaire d'Asie centrale, on le retrouvait à l'état sauvage dans une région allant de la Chine à l'Inde en passant par l'Égypte et l'Ukraine (Fig.4). Aujourd'hui l'ail «commun» (*Allium Sativum*) est largement cultivé à travers le monde. L'ail sauvage (*Allium Ursinum*) encore appelé ail des ours se trouve en Asie et en Europe centrale et dans presque toute la France sauf en région méditerranéenne et dans le sud-ouest où il est très rare. Il apprécie les zones ombragées, en sous-bois, et pousse dans des sols profonds et humides (Kramden, 2012).

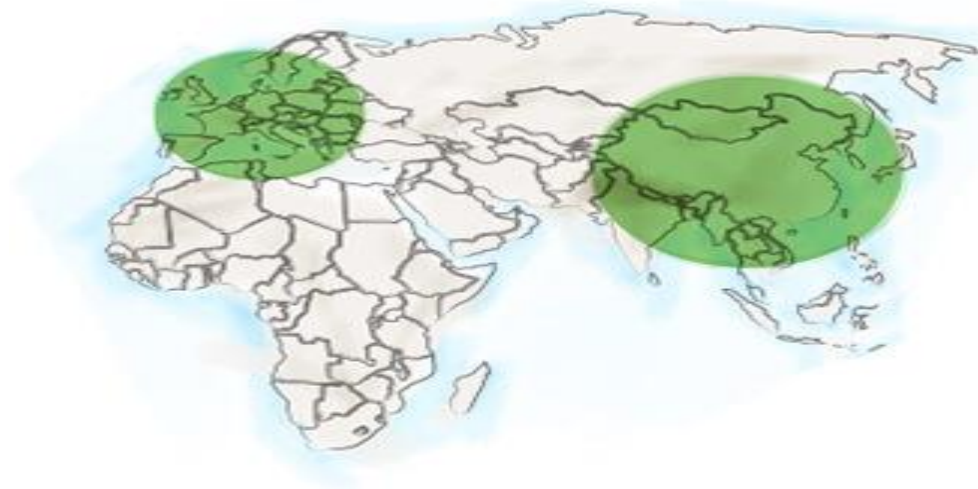


Figure 4 : ● Origine Géographique d'*Allium Sativum* (Iciek et al., 2009)

II.2.5 Composition chimique

La valeur énergétique de l'ail est 138,7 kcal/100g. La gousse contient 65% d'eau, 28% de polysaccharides de stockage, 2% de protéines dont essentiellement des enzymes (alliinase et peroxydases...), 12% d'acides aminés libres (alanine, arginine, acide aspartique, asparagine, histidine, leucine, méthionine, proline, tryptophane, phénylalanine, sérine, thréonine et valine). L'ail est riche en calcium, en phosphore et en soufre (Saleh et al., 2015).

On y trouve aussi du potassium, du zinc, du cuivre, du magnésium et des oligo-éléments comme, le sélénium et germanium (Tab.8). Cette plante renferme aussi des vitamines A, B1, B2, PP, C, les acides gras essentiels (vitamine F). D'autres, composants sont également identifiés, parmi lesquels on a les pigments phénoliques, les terpénoïdes, les saponines (β -chlorogénines) et les antibiotiques (Agarwal, 1996 et Marzougui, 2012).

Tableau 8 : Composition d'*Allium Sativum* frais (Favieret al., 1994 et Souci, 1994).

Composants	(g)	Minéraux	(mg)	Vitamines	
Eau	63,7	Na	17	C (mg)	30
Protéine	7	Mg	21	B12 (mg)	1,2
Glucide	24,5	P	134	Folâtres (μ g)	03
Amidon	22,1	K	446	Energie (kcal)	133
Lipides	3	Ca	38		
Fibres	0,5	Fe	1,4		

II.2.6 Activités Biologique d'*Allium Sativum*

II.2.6.1 Propriétés préventives vis-à-vis du cancer

La prise régulière d'ail dans l'alimentation quotidienne semble avoir un rôle dans la prévention des cancers. Le principe actif impliqué dans cette propriété serait l'allicine, qui a montré une action inhibitrice sur des tumeurs (**Goetz et Ghedira, 2012**). La S-allylcystéine inhiberait le processus de cancérogénèse et les saponines ont également montré une activité antitumorale (**Séverine, 2005**). Le mécanisme de la suppression du cancer entraîne la mort cellulaire par apoptose et diminution du taux de la prolifération cellulaire (**Nakagawa et al., 2001**). L'ajoéne pourrait contribuer à l'apoptose (**Hassan, 2004**).

II.2.6.2 Activité antimicrobien et antiparasitaire

L'Allicine et d'autres composés soufrés sont considérés comme les principaux composés responsables de l'effet antimicrobien de l'ail. L'ail est efficace contre un certain nombre de bactéries Gram négatif, Gram positif et certains champignons. Certaines bactéries Gram positif sont plus sensibles au jus d'ail, comme c'est le cas de Staphylocoque aureus, que les bactéries Gram négatif. Les germes réagissant à l'extrait d'ail sont nombreux comme Escherichia coli, Salmonella typhi, Klebsiella pneumoniae, Bacillus subtilis, Shigella et Vibrio cholerae (**Ahsan et al., 1996**).

Il a été montré que l'extrait aqueux d'ail peut être utilisé associer aux antibiotiques conventionnels, contre les agents d'infections nosocomiales fréquentes dans les hôpitaux. Parmi les champignons qui sont sensibles à l'ail, on a le Candida albicans. Il a été constaté dans une étude que la polymyxine B (PMB), est efficace contre diverses levures et les champignons filamenteux lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec l'allicine. Les virus sensibles à l'ail sont nombreux. Par exemple le Cytomégalo virus humain (HCMV), le virus B de la grippe, l'Herpès simplex virus de type 1, le virus Herpès simplex de type 2, le virus parainfluenza de type 3, le virus de la vaccine, le virus de la stomatite vésiculaire et le rhinovirus humain de type 2 (**Mikaili et al., 2013**).

L'ail élimine les parasites intestinaux et les larves d'insectes. Son huile essentielle a été testée en association avec le traitement du paludisme, le résultat était encourageant (**Govindan et al., 2016**).

II.2.6.3 Activité antioxydante

L'allixine et le sélénium les composants organiques soufrés solubles dans les lipides et les flavonoïdes, des composés phytochimiques antioxydants de l'extraits frais d'ail exerce une

action anti-oxydant en piégeant les radicaux libres, ce qui contribue à l'athérosclérose, l'activation du facteur de transcription induite par un oxydant, le facteur nucléaire (NF)-kappa B, qui a une signification clinique humaine dans l'expression du gène du virus d'immunodéficience et athérogènes (**Borek, 2011**).

II.2.6.4 Activité inhibitrice de l'agrégation plaquettaire

L'ail inhibe l'agrégation plaquettaire aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Des extraits aqueux, chloroformique ou méthanolique issus de la drogue inhibent le collagène, L'ADP, l'acide arachidonique, l'épinéphrine et la thrombine induite *in vitro* par l'agrégation plaquettaire. Les composés responsables de l'inhibition de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaires sont les vinyldithiines et les dialkyloligosulfures (**Touait et Bouitna, 2015**).

II.2.6.5 Activité Antidiabétique

L'administration par voie orale de l'extrait d'ail a diminué de manière significative la glycémie, l'urée, l'acide urique, de créatinine, AST et ALT, l'augmentation de l'insuline sérique chez les rats diabétiques, mais pas chez les rats normaux. Une comparaison a été faite entre l'action de l'extrait d'ail et le glibenclamide (600 microgrammes / kg). L'effet antidiabétique de l'extrait était plus efficace que celle observée avec le glibenclamide. En outre, l'extrait aqueux de l'*Allium Sativum* à 300mg/kg a donné le meilleur effet hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques avec alloxane. Les effets hypoglycémians pourraient représenter un deuxième mécanisme protecteur contre le développement de l'hyperglycémie commun dans le diabète sucré (**Eyo et al., 2011**).

II.2.6.6 Activité anti-hypertensive

Les γ -glutamylpeptides et la γ -glutamylallyl-cysteine-sulfoxyde de feuille d'ail pourraient exercer un effet bénéfique sur l'hypertension. L'allicine diminue le taux calcique cellulaire, entraînant une relaxation des muscles lisses vasculaires et une réduction de la pression artérielle (**Hughes et Lawson, 1991**).

L'étude réalisée par (**Benavides et al., 2007**) a démontré que les polysulfures organiques dérivés d'ail sont convertis par les érythrocytes en gaz de sulfure d'hydrogène (H₂S). Ce dernier peut relaxer le muscle lisse vasculaire, induire une vasodilatation des vaisseaux sanguins isolés et réduire la pression sanguine (**Lefer, 2007**).

II.2.6.7 Effet hypocholestérolémiant

Les composés soufrés ajoène, méthylajoène, allicine, 1,3-vinyldithiine et diallyl disulfide, pris individuellement, inhibent la synthèse du cholestérol dans des proportions situées entre 37 et 72 % (**Sendl et al., 1992**).

D'après **Masuuraen 2001**, les saponines de l'ail inhibent l'absorption du cholestérol dans la lumière de l'intestin, probablement par formation d'un complexe entre les deux molécules. Un second effet constaté est la diminution du cholestérol LDL dans le plasma sanguin, sans diminuer le taux de HDL chez un animal souffrant d'hypercholestérolémie (**Harenberg et al., 1988**).

II.2.6.8 Effet sur la digestion

L'ail est reconnu comme une plante carminative, soulageant la détresse épigastrique et abdominale, les éructations, les flatulences, les coliques et la nausée. La présence de fructanes est également notable. Le fructane est un polysaccharide particulier en nutrition humaine. En effet, ni l'homme ni *Escherichia coli*, bactérie principale du colon, ne sont capables de le cliver, étant donné qu'ils ne possèdent pas l'enzyme fructane-hydrolase. La consommation de fructane équilibrerait la flore intestinale vers davantage de bifidobactéries, qui hydrolysent le fructane dans le gros intestin et non dans l'intestin grêle, faisant de l'ail un aliment prébiotique dans le régime alimentaire (**Dethier, 2010**).

CHAPITRE III
LES ANTIOXYDANTS

III. Les Antioxydant

III.1 Définition d'un Antioxydant

IV.4.11.

Comme leur nom l'indique, les antioxydants protègent l'organisme de l'oxydation. Ce sont des substances qui sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation au stade de l'initiation ou de la propagation (**Pszczola, 2001**).

Les antioxydants sont aussi définis comme des substances présentes dans les aliments et qui agissent sur les fonctions physiologiques de l'homme en diminuant de façon significative les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène, des espèces oxygénées azotées, ou des deux (**Food and Nutrition Board of the National Academy of Science, 1998**).

III.2 Mécanisme d'action

IV.4.12.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogènes ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. (**Fig.05**) En plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Berset et Cervelier, 1996**).

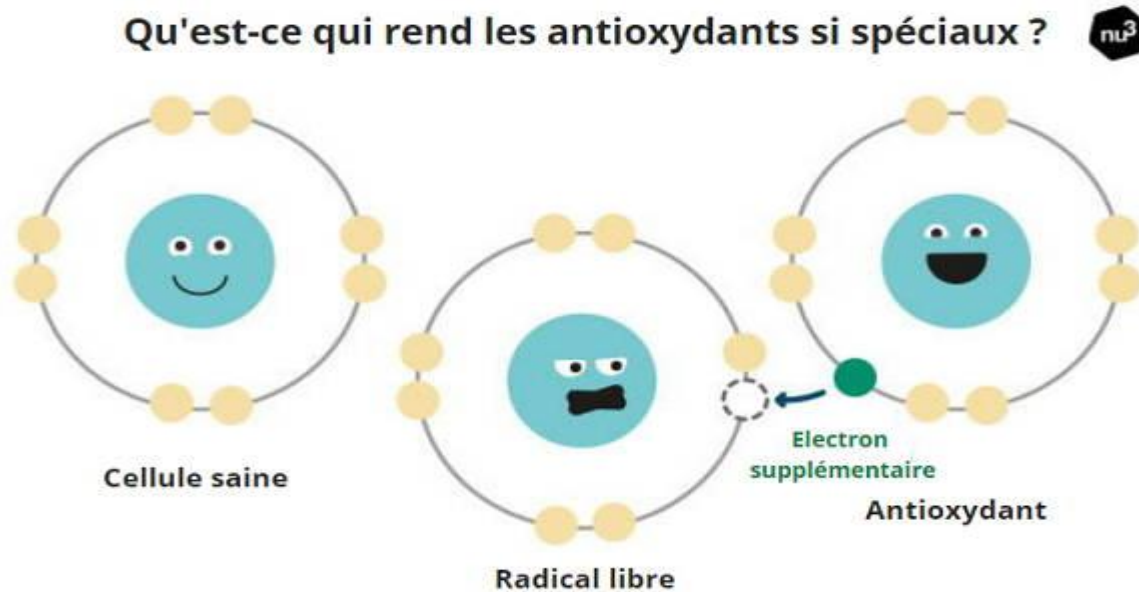


Figure 05 : Mécanisme de dé-oxydation (**Kimberly et Bangard 2021**).

La classification de tous les antioxydants connus est difficile, ils sont classés généralement par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique.

III.3 Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (**Gardès-Albert, 2003**).

Groupe I

Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydants primaires, chain breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxyés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement ($\text{ROO}\cdot$), en comparaison avec les autres radicaux comme le ($\text{RO}\cdot$) et la faible concentration du piègeur du radical libre dans l'aliment. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (**Frankel et al., 2000**).

Groupe II

Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Le groupe II inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydatives, enzymes antioxydantes et destructeurs des hydroperoxides. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller et al., 1996).

III.4 Classification des antioxydants suivant la nature chimique

Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger (Evans et al., 1992).

La recherche de nouveaux antioxydants naturels est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques. Dans la littérature, des milliers de publications ayant pour sujet les antioxydants naturels ainsi que leur effet sur l'organisme humain peuvent être consultées (Namiki, 1990).

III.4.1 Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (Diplock, 1991).

III.4.2 Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (La superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Antwerpen, 2006).

a- Les superoxydes dismutases (SOD)

La famille des superoxydes dismutases comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H_2O_2 et O_2 (Antwerpen, 2006).

L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et Favier, 1997).

b- Les catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).

c- Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX)

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Marfak, 2003)

La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH. Cette réaction produit du $NADP^+$ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase).

III.4.3 Les antioxydants non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Tab.09). Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^+ permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (Trivalle, 2002).

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piègeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. A titre d'exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases (**Bruneton, 1999**).

Tableau 09: Principaux modes d'action de quelques antioxydants (**Pastre, 2005**).

	Nature	Mode d'action
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	Piéger des radicaux libres
	Vitamine C	Piéger des radicaux libres
	Béta carotène	Piéger des radicaux libres
	Béta carotène	Piéger des radicaux libres
	Béta carotène	Fixation des métaux de Transition
	Acide urique	Piéger certains radicauxlibres
Défenses enzymatiques	Superoxydedismutase	Catalyse la dismutation de superoxyde
	Catalase Métabolise	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydro peroxydes

III.5 Définition des radicaux libres

On définit comme radical libre (RL), n'importe quelle molécule indépendante contenant un ou plusieurs électron(s) non apparié(s) (**Christopher et al., 1995**).

Les radicaux libres (RLs) sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une « réaction en chaîne » débute lorsqu'un RL attaque la molécule stable la plus proche en lui « volant » son électron, et la « molécule attaquée » devient alors elle-même un RL (**Martinez-Cayuela, 1995**).

Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (**Anderson et al., 1996 et Fosting, 2004**).

Présent dans l'air pour environ une partie sur cinq, l'oxygène est indispensable à la vie de la plupart des êtres vivants. Il possède deux électrons non appariés, ceci explique sa grande réactivité. Cependant, la plupart des réactions oxydatives qu'il est susceptible de provoquer spontanément dans un organisme humain sont extrêmement lentes, Il est donc peu toxique par lui-même (**Dacosta, 2003**).

Mais sous l'action des radiations ionisantes, de rayons UV, de métaux de transition « fer, cuivre...etc. » ou au cours de certaines réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent, on les désigne souvent comme espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou reactive oxygen species (ROS), selon la terminologie anglaise (**Novelli, 1997 ; Bartosikova et al., 2003**).

III.6 Principaux radicaux

Les espèces réactives de l'oxygène sont des radicaux libres ou des entités chimiques ayant au moins un atome d'oxygène et possédant un ou plusieurs électron (s) libre (s) les rendant instables. Les espèces réactives de l'oxygène les plus couramment rencontrées sont : le radical hydroxyl (OH•), le radical superoxyde ($O\bullet_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxyde nitrique (NO•). (Le symbole • indique la présence d'un électron célibataire) (**Halliwell, 1999**).

III.6.1 Anion -radical superoxyde (O^{2-})

Est issu de la réaction de l'oxygène avec un électron, souvent au niveau de la chaîne de transport d'électrons de la membrane mitochondriale ou au cours de la lutte des leucocytes contre les bactéries et les virus. Il semble être impliqué dans la protéolyse non enzymatique du collagène.

III.6.2 Peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2)

Provient d'une réaction entre deux anions superoxyde qui met fin au processus radicalaire. IL s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant.

III.6.3 Le radical hydroxyle (HO•)

Est le produit de la réaction du peroxyde d'hydrogène avec les ions métalliques comme par exemple le Fer. Avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus instable et le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. (**Potterat, 1997; Dacosta, 2003 et Hennebelle, 2006**). Il attaque presque toutes les molécules dans le corps. À cause de sa réactivité, il ne diffuse pas loin de son point de synthèse. Ce radical est à l'origine du début de la peroxydation des lipides des membranes cellulaires (**Halliwell et Gutteridge, 1985 et Halliwell, 1991**).

Ce radical réagit réciproquement avec les bases puriques et pyrimidiques de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et provoque la destruction de ce dernier. Cette espèce de l'oxygène réactive peut complexer les atomes d'hydrogène des molécules biologiques, comme les thiols pour former des radicaux soufrés capables de se lier à l'Oxygène pour produire des radicaux de l'oxysulfure qui causent la dégradation de ces molécules biologiques (Halliwell, 1991).

III.6.4 Oxyde nitrique (NO•)

Produit par la NO synthétase, est un vasodilatateur physiologique et joue aussi un rôle de messager interneuronal. Il peut avoir un rôle néfaste (Fig.6). (Potterat, 1997; Dacosta, 2003 et Hennebelle, 2006).

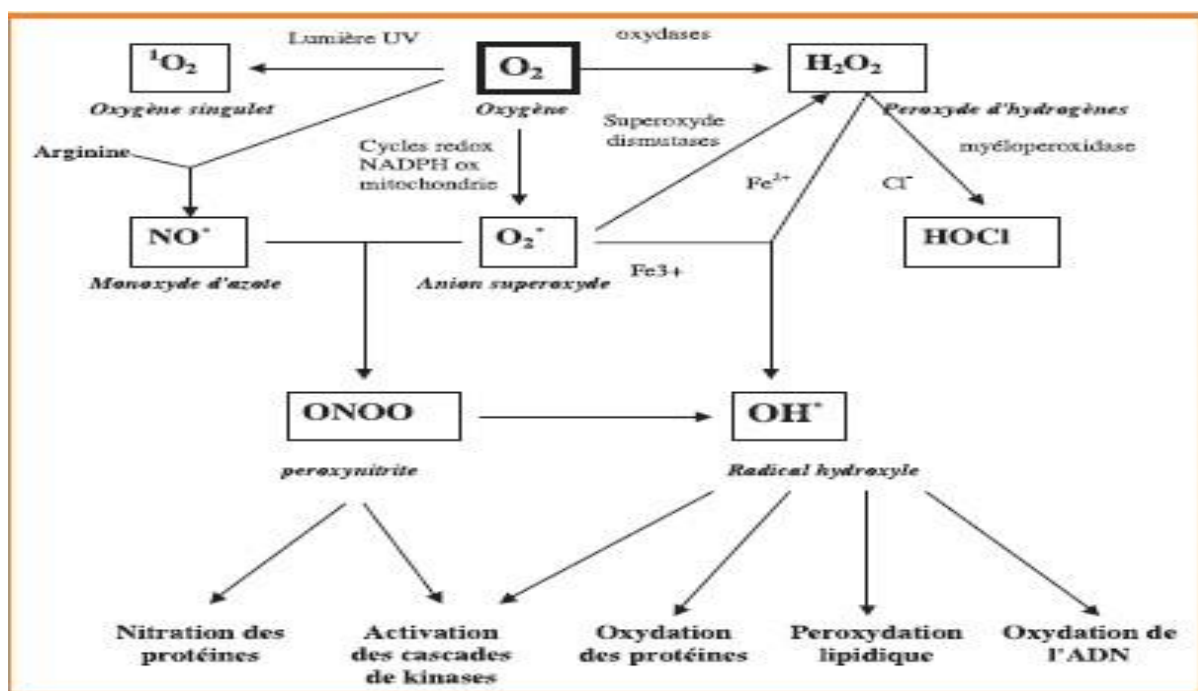


Figure 6 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

III.7 Le stress oxydatif

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

III.8 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 surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant» (**Favier, 2003**).

CHAPITRE IV
MATÉRIELS ET MÉTHODES

V. Matériels et méthode

Objectif du travail

L'objectif de présent travail est :

- Extraction par un solvant polaire.
- Caractérisation qualitative des métabolites secondaires qui existent dans les deux plantes d'*Allium Cepa* et d'*Allium Sativum* par un criblage phytochimique.
- Etude quantitative des différents extraits obtenus par quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes par un dosage colorimétrique.
- Etude l'activité anti-oxydante de la plante *Allium Cepa* et la plante *Allium Sativum* par les tests suivants :
 - L'activité de piégeage des radicaux d'extraits de plantes contre le radical 1,1 diphényl-2-picrylhydrazyle stable (DPPH).
 - Capacité antioxydante déterminée par le dosage des cations radicaux (ABTS).
 - Capacité antioxydante déterminée par le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).

IV.4.13. Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative de cette présente étude, a été réalisée sur une période qui s'est étalée du 12 février 2023 au 11 mai 2023. Elle a été effectuée au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire de recherche Structure, Elaboration et Application des Matériaux Moléculaires de la faculté des sciences exactes d'Université *Abdel Hamid Ibn Badis-Mostaganem*.
- Laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et vie, département de biologie *Université Adel Hamid Ibn Badis-Mostaganem*.

IV.1. Matériels

IV.1.1. Matière végétale

Dans ce travail de recherche, les matériels végétaux sont représentés par les bulbes de *Allium Cepa* et d'*Allium Sativum* (Fig.7). Ils ont été respectivement récoltés dans la willaya de Mostaganem en Algérie.



Figure 7 : *Allium Cepa* rouge et *Allium Sativum* rouge utilisé au laboratoire

IV.2. Méthode

IV.2.1. Extraction de la matière végétale

Après avoir récolté et nettoyer les plantes (*Allium Cepa* et *Allium Sativum*), la peau de chaque échantillon a été enlevée pour récupérer les bulbes. Ensuite, le nettoyage de tous les échantillons a été nécessaire pour enlever les débris. Ensuite, un broyage direct des organes a été fait en utilisant le broyeur électrique (Aklou, 2016)

IV.2.2. Echantillonnage

L'extraction des bulbes d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) a été réalisée par broyage des bulbes avec de l'eau distillée. Puis, une filtration a été nécessaire pour séparer l'extrait liquide et la partie solide de la drogue végétale (Fig.8). Ensuite, l'extrait a été lyophilisé pour conserver toutes ses propriétés naturelles. En fin un lyophilisat a été obtenue et pesé pour déterminer son rendement (Schumann, 2005).

$$R\% = (PF/ PI) \times 100$$

Avec :

R : Rendement en pourcentage (%)

PF : Poids de l'extrait sec en gramme

PI : Poids de la matière végétale mise à l'extraction en gramme. (Nathan, 2014)



Figure 8 : Extraits lyophilisé d'*Allium Sativum* (Ail); d'*Allium Cepa* (Oignon) et du Mélange *Allium Sativum* et *Allium Cepa* (Ail et Oignon).

IV.2.3. Analyses qualitatives

IV.2.3.1. Screening phytochimique

Il est fondé sur des réactions de coloration ou de précipitation à l'aide de réactifs appropriés et a permis de suggérer la présence de certaines classes de phyto-constituants.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction positive : + +
- Réaction moyennement positive : +
- Réaction négative : -

IV.2.3.1.1. Flavonoïdes

IV.4.14.

Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. A l'infusé à 5% (5ml), ont été ajoutés un acide (5ml de H₂SO₄ à 10%) puis une base (5ml de NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacée en milieu basique, cela confirme la présence d'anthocyanes.

- Mise en évidence de la réaction à la cyanidine

Après avoir introduit dans un tube à essai 5ml d'infusé et 5ml d'alcool chlorhydrique (éthanol 95%, eau distillée et HCl concentré à volumes égales), quelques copeaux de

magnésium et 1ml d'alcool iso-amylque ont été ajoutés. L'apparition d'une coloration rose orangée (*flavones*) ou rose violacée (*flavonones*) ou rouge (*flavonols*) rassemblée dans la couche *surnageante* d'alcool *isoamylique* indique la présence d'un flavonoïde libre (*génines*). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides *flavoniques*. La réaction est négative avec les *chalcones*, les *dihydrochalcones*, les auronnes, les catéchines et les *iso-flavones*.

- Mise en évidence des Leucoanthocyanes

Une réaction à la *cyanidine* a été effectuée sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffée au bain-marie pendant 15min. La présence de leucoanthocyanes a été indiquée par le développement d'une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brunrouge.

- Mise en évidence des flavanes

Deux millilitres d'infusé à 10% ont été mélangés à l'acide chlorhydrique concentré renfermant de la vanilline (2%). La réaction positive a été révélée par l'apparition d'une coloration rouge (**Harborne, 2005**).

IV.2.3.1.2. Stérols et triterpènes

IV.4.15.

Les stérols et les triterpènes ont été mis en évidence par la réaction de Liebermann. Deux grammes (2g) de poudre végétale ont été mis dans 40ml d'éther. Après une macération de 24 heures, le mélange a été filtré et complété à 20ml (extrait éthérique). Ensuite, 10ml de l'extrait ont été évaporés à sec au bain-marie et le résidu a été repris et dissout avec 1ml d'anhydride acétique, puis 1ml de chloroforme CHCl_3 . Cette solution a été partagée entre deux tubes à essai, l'un servant de témoin, alors que dans le second 2ml de H_2SO_4 concentré ont été coulés. La présence des stérols et des triterpènes a été révélée par la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, et la couche surnageante devenant verte ou violette, comme rapporté par **Harborne (2005)**.

IV.2.3.1.3. Caroténoïdes

IV.4.16.

Après évaporation à sec de 5ml de l'extrait éthéré (préparation précédente), 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine SbCl_3 ont été ajoutées dans le chloroforme ou dans le tétrachlorure de carbone (CCl_4). La présence de caroténoïdes a été révélée par le développement d'une coloration bleue devenant rouge par la suite (**Harborne, 2005**).

IV.2.3.1.4. Tanins

La présence des tanins a été mise en évidence par la réaction au chlorure de fer (III) dans l'infusion à 5% par l'addition de quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) 1%. La réaction au FeCl_3 provoque l'apparition de précipité ou de coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

- **Mise en évidence des tanins catéchiques**

Cinq millilitres d'infusé ont été ajoutés à 5ml d'HCl concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15min puis filtré sur papier filtre. En présence des tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge soluble dans l'alcool iso-amylique.

- **Mise en évidence des tanins galliques par la réaction de Stiasny**

Trente millilitres d'infusé ont été ajoutés à 15ml de réactif de Stiasny (10ml de formol 40% et 5ml d' HCl concentré), le mélange a été maintenu au bain-marie à 90° C pendant 15min environ.

Après filtration, le filtrat a été saturé par 5g d'acétate de sodium pulvérisée. Ensuite, 1ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 1% a été ajouté. La présence des tanins galliques a été montrée par l'obtention d'un précipité (**Harborne, 2005**).

IV.2.3.1.5. Saponosides

IV.4.17.

Les saponines ont été mises en évidence par le test de mousse dans les décoctés à 1%. 100ml de ce décocté ont été répartis dans 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 successivement 1,2.. 10ml. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée puis agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur. Après un repos de 15 minutes, la hauteur de la mousse a été mesurée. Un indice supérieur à 100 a été considéré comme une réaction positive témoignant d'une richesse de la plante en *saponosides* (**Harborne, 2005**). Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de l'ordre d'un cm permet de calculer l'indice de mousse.

$$\text{Indice de mousse (Idm)} = 10 / n10^{-2}$$

Où :

n : numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm.

IV.2.3.1.6. Coumarines

IV.4.18.

La recherche des coumarines a été basée sur la propriété que possèdent la plupart d'entre elles, de présenter une fluorescence nette aux rayons ultraviolets. Cinq millilitres (5ml) d'extrait éthéré obtenu après une macération de 24 heures ont été évaporés à l'air libre, puis repris avec 2ml d'eau chaude. La solution a été partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines s'est manifestée après ajout dans l'un des tubes de 0,5ml de NH_4OH à 25% et observation de la

fluorescence sous UV à 366nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines, l'autre tube sert de témoin (**Raman, 2006**).

IV.2.3.1.7. Anthocyanes

IV.4.19.

À deux millilitres d'infusé (5%) ont été additionnés à 2ml d'acide chlorhydrique 2N. La présence d'anthocyanes a été montrée par l'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleuviolacée par addition d'ammoniac (**Senhaji et al., 2005**).

IV.2.3.1.8. Proanthocyanidols

IV.4.20.

Deux millilitres d'infusé ont été additionnés à 2ml d'acide chlorhydrique concentré. Ensuite, le mélange a été maintenu au bain-marie bouillant pendant cinq minutes. Une réaction positive s'est manifestée par l'apparition d'une coloration rouge (**Senhaji et al., 2005**).

IV.2.3.1.9. Quinones

Les quinones ont été mises en évidence par la réaction de *Brissemoret* et Combes. 1g de poudre de la plante a été introduit dans un erlenmeyer de 250ml, puis humecté avec H₂SO₄ dilué à 10%. Ensuite, 20ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme ont été ajoutés et laissé réagir pendant 24 heures. Après filtration, 5ml du filtrat a été placé dans une capsule et évaporé à sec, puis le résidu a été repris par quelques gouttes d'alcool 95°. Une solution d'acétate de Nickel 5% a été ajoutée. Selon la nature de la quinone, il est apparu :

Une coloration bleue et précipité : *Benzoquinones* ;

Une coloration violette et précipité : *Naphtoquinones* ;

Une coloration rouge sans précipité : *Anthraquinones* (**Harborne, 2005**).

IV.2.3.1.10. Mucilages

Après avoir introduit 1ml de décocté (10%) dans un tube à essai, 5ml d'éthanol absolu ont été ajoutés, suivi d'une agitation. Le mélange a été reposé pendant une dizaine de minutes et la présence de mucilage dans la drogue a été indiquée par l'obtention de précipité floconneux (**Amadou, 2005**).

IV.2.3.1.11. Oses et holosides

Cinq millilitres de décocté ont été introduits dans un bécher de 100ml et évaporés au bainmarie à sec. Au résidu, il a été ajouté 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5mn, 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé ont été additionnées avec du thymol. La présence d'oses et holosides a été révélée par le développement d'une coloration rouge (**Muanda, 2010**).

IV.2.3.1.12. Composés réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les décoctés par le réactif de Fehling (Annexe I). Après avoir introduit 5ml de décocté dans un bécher de 100ml, la solution a été évaporée à sec au bain-marie. Au résidu, a été ajouté 1ml de réactif de Fehling (0,5ml de réactif A et 0,5ml de réactif B, mélange extemporané). La présence de composés réducteurs a été révélée par l'obtention d'un précipité rouge-brique (**Mogode Debete, 2005**).

IV.2.3.1.13. Stupéfiants

0,5g de poudre ont été pesés et introduit dans un tube à essai. Ensuite, 5ml d'éther de pétrole ont été ajoutés. Le mélange a subi une agitation pendant 15min. Après décantation de la phase éthéro-pétrolique dans une capsule et évaporation à sec au bain-marie, 3 à 4 gouttes de KOH 5% ont été ajoutés dans l'alcool. La présence de tétrahydrocannabinols a été indiquée par une coloration violette (**Diallo, 2005**).

IV.2.3.1.14. Protéines

Les protéines ont été mises en évidence par la méthode de Lowry. A 1ml d'extrait végétal, 5ml de solution A (98ml de Na₂CO₃ à 2% dans NaOH 0,1N, 1ml de sulfate de cuivre à 1% et 1ml de tartrate double de potassium sodium) ont été additionnés. Après avoir agité et laissé au repos pendant 10 minutes, 0,5ml de réactif de Folin ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été agité énergiquement puis laissé reposer pendant 30 minutes. La présence de protéines a été indiquée par l'apparition d'une coloration bleue (**kone, 1998**).

IV.2.3.1.15. Hétérosides cardiotonique

La solution à analyser a été obtenue par addition à 1g de poudre, 10ml d'alcool 60° et 5ml d'une solution d'acétate de plomb neutre à 10%. Cette solution a été portée au bain-marie bouillant pendant 10 minutes puis filtrée sur coton. Le filtrat a été agité avec 10ml de

chloroforme (CHCl_3) sans former d'émulsion (mettre dans une ampoule à décanter). Après une décantation, la phase chloroformique a été soutirée (à l'aide d'une pipette) et partagée entre 3 tubes à essai. Evaporés au bain-marie à sec, les résidus ont été repris avec 0,4ml d'*iso-propanol*. Dans le tube 1, un millilitre de réactif de *Baljet* (Annexe I), dans le tube 2, un millilitre de réactif de *Kedde* (Annexe I) et dans le tube 3, un millilitre de réactif de *Raymond-Marthoud* (Annexe I) ont été introduits. Quatre gouttes de potasse (KOH 5%) dans l'éthanol ont été ajoutées à chaque tube et observé après une dizaine de minutes. En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent : tube 1 : orangée, tube 2 : rouge violacé, tube 3 : violet fugace (**Diallo, 2005**).

IV.2.3.1.16. Hétérosides cyanogénique

Cinq millilitres d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène ont été ajoutés dans un tube à essai contenant 1g de poudre végétale. La partie supérieure du tube a été nettoyée puis mis en contact avec le bout du papier Picrosodé (Annexe I) trempé de réactif de Guignard (Annexe I). Après 10 minutes, le rougissement du papier Picrosodé a été traduit par la présence d'hétéroside cyanogénique ; la couleur rouge est due à l'acide cyanhydrique (**Diallo, 2005**).

IV.2.3.1.17. Dérivés anthracéniques

-Mise en évidence des anthraquinones libres par le test de Bornsträger

A 1 gramme de poudre, 10ml de chloroforme ont été ajoutés. Le mélange a été chauffé pendant 3mn au bain-marie puis filtré à chaud et complété à 10ml. Ensuite, à 1ml de l'extrait chloroformique obtenu, 1ml de NH_4OH dilué a été additionné et agité. La présence d'*anthraquinones* libres a été indiquée par la coloration plus ou moins rouge.

-Mise en évidence des anthraquinones combinées

-Les O-hétérosides

A partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, un hydrolysate a été préparé auquel a été ajouté 10ml d'eau et 1ml d' HCl concentré. Dans un tube à essai, l'ensemble a été ensuite maintenu au bain-marie bouillant pendant 15min. 5ml de l'hydrolysate ont été agités avec 5ml de chloroforme. Après décantation, la phase organique a été soutirée et mise dans un tube à essai. Celle-ci a été agitée avec 1ml de NH_4OH dilué au demi. La présence d'anthraquinone a été révélée par la coloration rouge plus ou moins intense qui indique la présence de génines *O*-hétérosides. Si la réaction est négative ou faiblement positive, la recherche des *O*-hétérosides à génine réduite est nécessaire.

-Les O- Hétérosides à génines réduites

Dans un tube à essai, 5ml d'hydrolysats et 3 à 4 gouttes de FeCl_3 (chlorure ferrique) à 10% ont été introduits. Le tout a été porté au bain-marie bouillant pendant 5 minutes puis refroidi sous courant d'eau. Après agitation de la solution avec 5ml de chloroforme, la phase chloroformique a été soutirée et introduite dans un tube à essai contenant 1ml de NH_4OH dilué au demi. Ensuite, le mélange a été agité. En présence de produit d'oxydation *anthranol*, *anthrone*, la coloration rouge sera plus intense que précédemment.

-Les C-hétérosides

La phase aqueuse, qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hétérosides, a été reprise par 10ml d'eau distillée et 1ml de FeCl_3 10%. Puis, le tube à essai a été maintenu dans un bain-marie bouillant (après ébullition) pendant 30 min. Après refroidissement sous courant d'eau, la solution a été agitée avec 5ml de chloroforme. La phase chloroformique soutirée a été secouée avec 1ml de NH_4OH dilué. L'existence des C-hétérosides est confirmée par la coloration plus ou moins rouge après agitation qui indique la présence de *génines* C-hétérosides (Diallo, 2005).

IV.2.3.1.18. Alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été mis en évidence grâce aux réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes. Le réactif de *Dragendorff* (Annexe I) (réactif à l'*iodobismuthate* de potassium) et le réactif de Mayer (réactif à l'*iodomercurate* de potassium) ont été utilisés. Une solution à analyser a été préparée avec 10g de poudre végétale séchée et 50ml de H_2SO_4 10%. Après agitation, le mélange a été macéré pendant 24 heures à la température du laboratoire puis filtré sur papier filtre et rincé à l'eau distillée de manière à obtenir 50ml de filtrat. Ensuite, une caractérisation par précipitation a été effectuée. Dans trois tubes à essai, 1ml de filtrat a été introduit et 5 gouttes de réactif de Mayer (Annexe I) dans le premier tube, 5 gouttes de réactif de *Dragendorff* dans le second et en se servant d'un troisième tube sans réactif comme témoin. Après 15 minutes, la présence des alcaloïdes a été indiquée par la formation d'un précipité : blanc-jaunâtre dans le premier tube, orange dans le deuxième tube et orange abondant dans le tube témoin (Harborne, 2005).

IV.3.2. Analyses quantitatives

IV.3.2.1. Détermination de la teneur en polyphénol totaux

La teneur phénolique totale est couramment déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de *Folin-Ciocalteu*. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de *folin-ciocalteu*. Le mélange d'acide *phosphotungstique* ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide *phospho-molybdique* ($\text{H}_3\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}\text{P}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait végétal (**Boizot et al., 2006**).

Un volume de 1 mL de l'extrait aqueux de la plante a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai suivi de l'addition de 5 mL du réactif *Folin Ciocalteu* (2 mol/L) dilué 10 fois, Après 5 min d'incubation, 4 ml de carbonate de sodium à une concentration de 75 g / L ont été ajoutés et le volume a été ajusté à 10 ml. Le mélange résultant a été incubé à température ambiante pendant 1 h. Les absorbances des échantillons ont été mesurées à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-vis.

Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique/g d'extrait lyophilisé. La même procédure a été utilisée pour réaliser une courbe standard en utilisant de l'acide gallique et une plage de concentration de 0 à 10 µg/ml a été prise. Toutes les expériences ont été réalisées en triple.

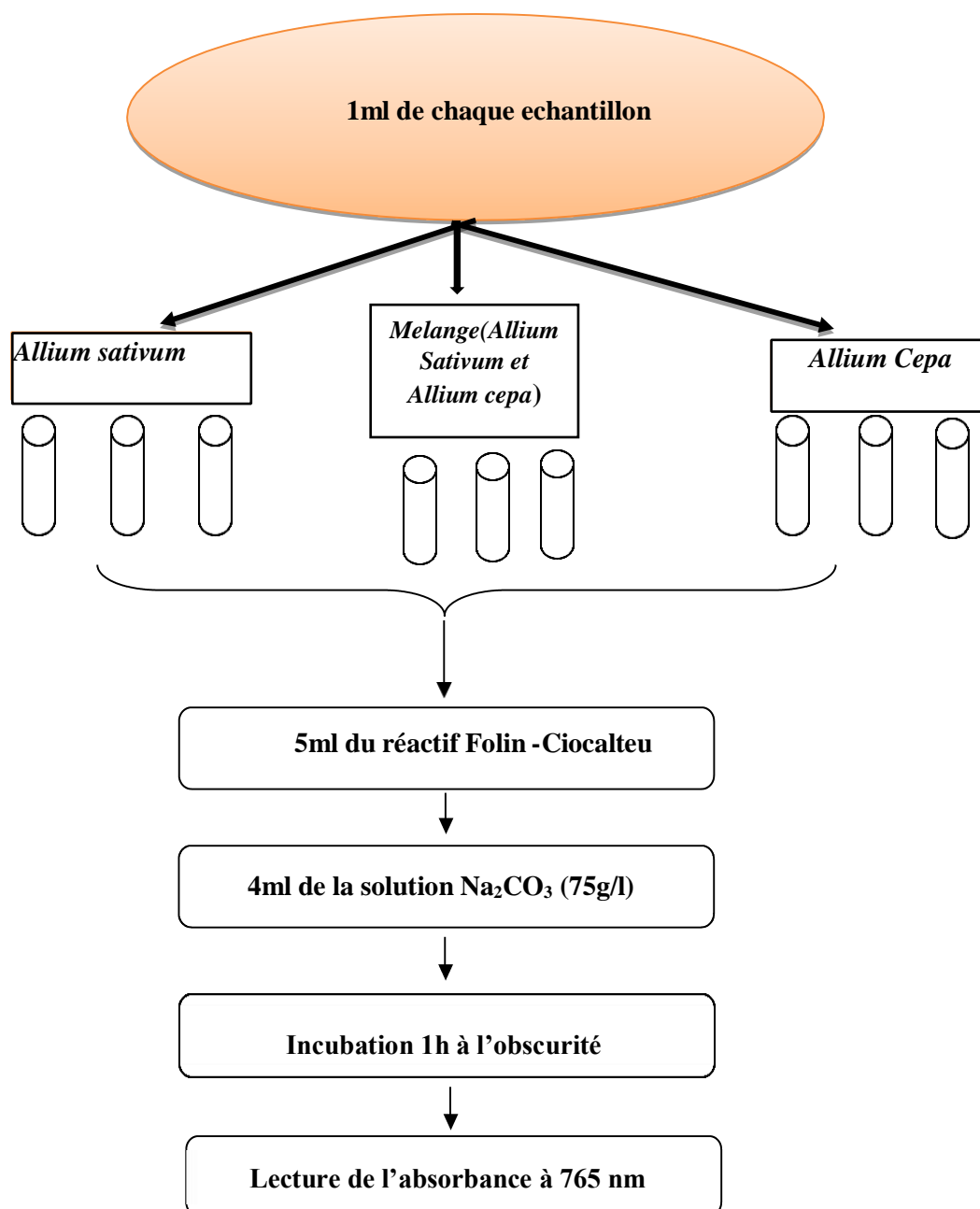


Figure 10 : Protocole du dosage des phénols totaux (Boizot et al., 2006).

IV.3.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions AL^{3+} sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité de flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (Bahorun et al., 1996).

Un volume de AlCl_3 solution méthanolique 0,5 ml (2%) a été mélangée avec 0,5 ml d'une solution d'extrait (0,1 mg/ml). Après 10 mn d'incubation, les densités optiques ont été enregistrées à 430 nm (Chang, 2002).

Les données obtenues ont été le moyen de trois déterminations. Les quantités de flavonoïdes dans les extraits végétaux ont été exprimées en mg d'équivalents quercitrine (QE)/g d'extrait lyophilisé.

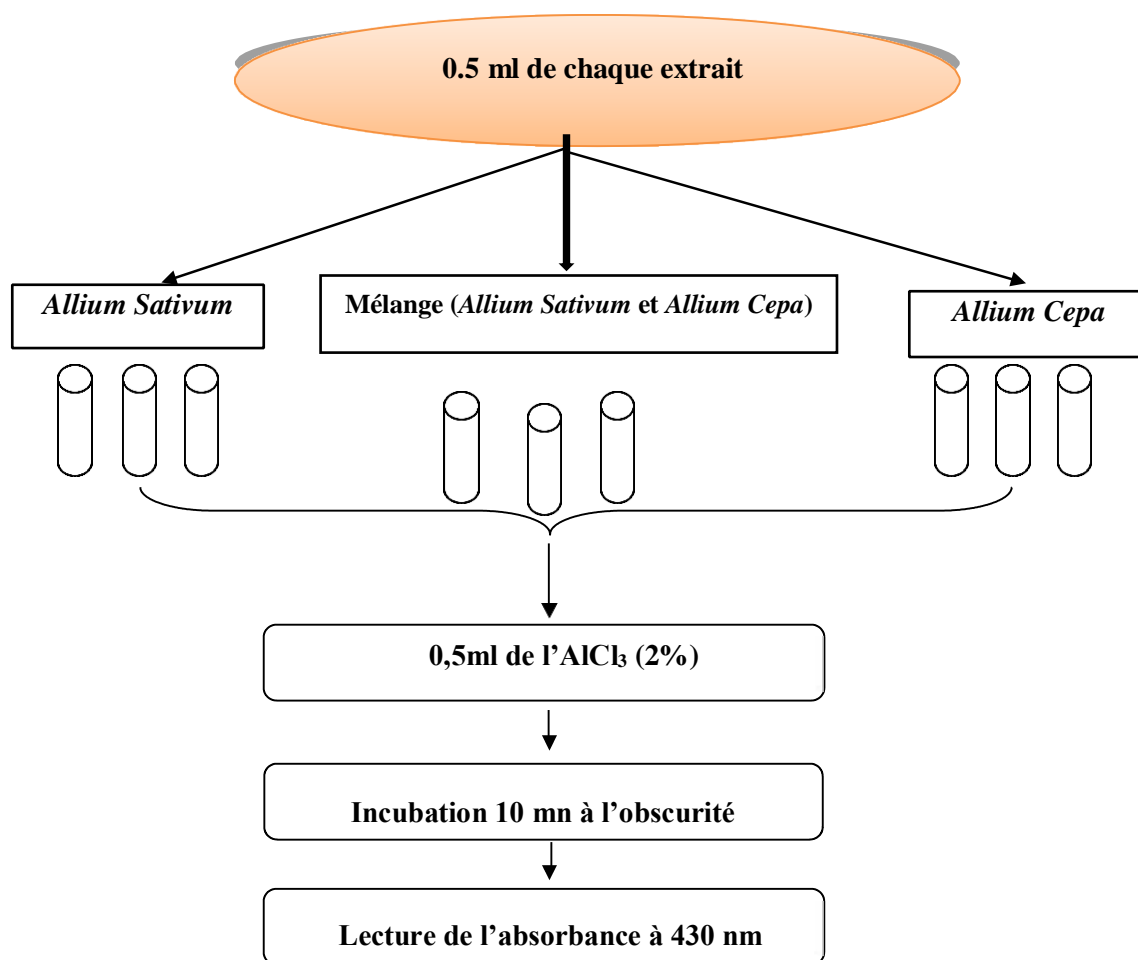


Figure 11 : Protocole du dosage des flavonoïdes (Chang, 2002).

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydante

IV.4.1. Capacité antioxydant déterminée par le diphényle-1-picrylhydrazyl

L'activité de piégeage des radicaux d'extraits des bulbes d'*Allium Sativum*, d'*Allium Ceba* et du mélange (d'*Allium Sativum* et *Allium Ceba*) plantes contre le radical 1,1 diphényl-2-picrylhydrazyle stable (DPPH) a été déterminée par spectrophotométrie (Zakaria, 2008). Des

solutions mères d'extraits bruts ont été préparées à 1 mg/ml. Cinquante microlitres d'échantillons de concentration différentes ont été ajoutés à 5 ml d'une solution de méthanol à 0,004% de DPPH. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif la concentration en extrait qui inhibe 50 % (IC50) du radical DPPH est calculée à partir du graphe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait en utilisant l'équation exponentielle sous la formule suivante:

$$(I \%) = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

(I %) : pourcentage de l'activité antiradicalaire

Abs échantillon: absorbance de l'échantillon

Abs Contrôle: absorbance du contrôle négatif

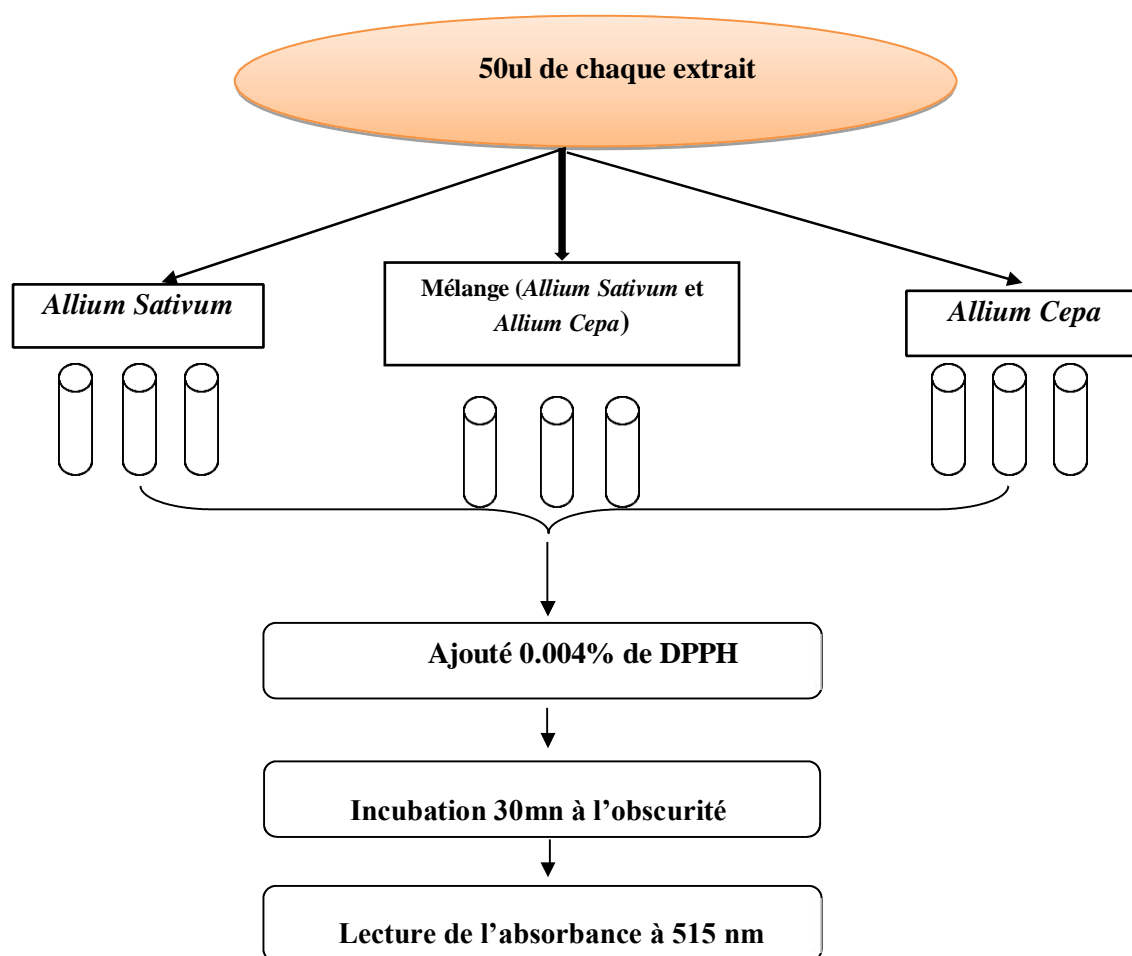


Figure 12 : Protocole de dosage de DPPH (Zakaria, 2008).

IV.4.2. Capacité antioxydante déterminée par le dosage des cations radicaux ABTS

Le cation radical ABTS a été généré en faisant réagir 7 mmol/L de solution mère d'ABTS avec 2,45 mmol/L de solution de persulfate de potassium. Le mélange réactionnel est mis en incubation, à l'obscurité, pendant 16 h à température ambiante, avant utilisation. Avant le dosage. La solution fille de travail d'ABTS est obtenue en diluant la solution mère d'ABTS⁺ avec du méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance d'environ 1 à 734 nm (Huang, 2011).

Une aliquote (50 µL) de chaque échantillon à différentes concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 mg/mL) a été ajoutée à 5 mL de solution ABTS⁺ diluée. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm. L'inhibition du cation radical ABTS en pourcentage a été calculée par la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [\text{Ac} - (\text{AS} - \text{AB})] / \text{AC}$$

Où :

AC : l'absorbance du contrôle

AS : l'absorbance de l'échantillon

AB : l'absorbance du blanc.

L'éthanol (5 ml) plus chaque solution échantillon (50 µl) a été utilisé comme blanc. Une solution d'ABTS⁺ (5 ml) plus de l'éthanol (50 µL) a été utilisée comme témoin négatif. De plus, une solution de Trolox (aux concentrations de 100, 80, 60, 40, 20, 0 µg/mL) a été utilisée comme contrôle positif. Toutes les mesures ont été répétées en triple.

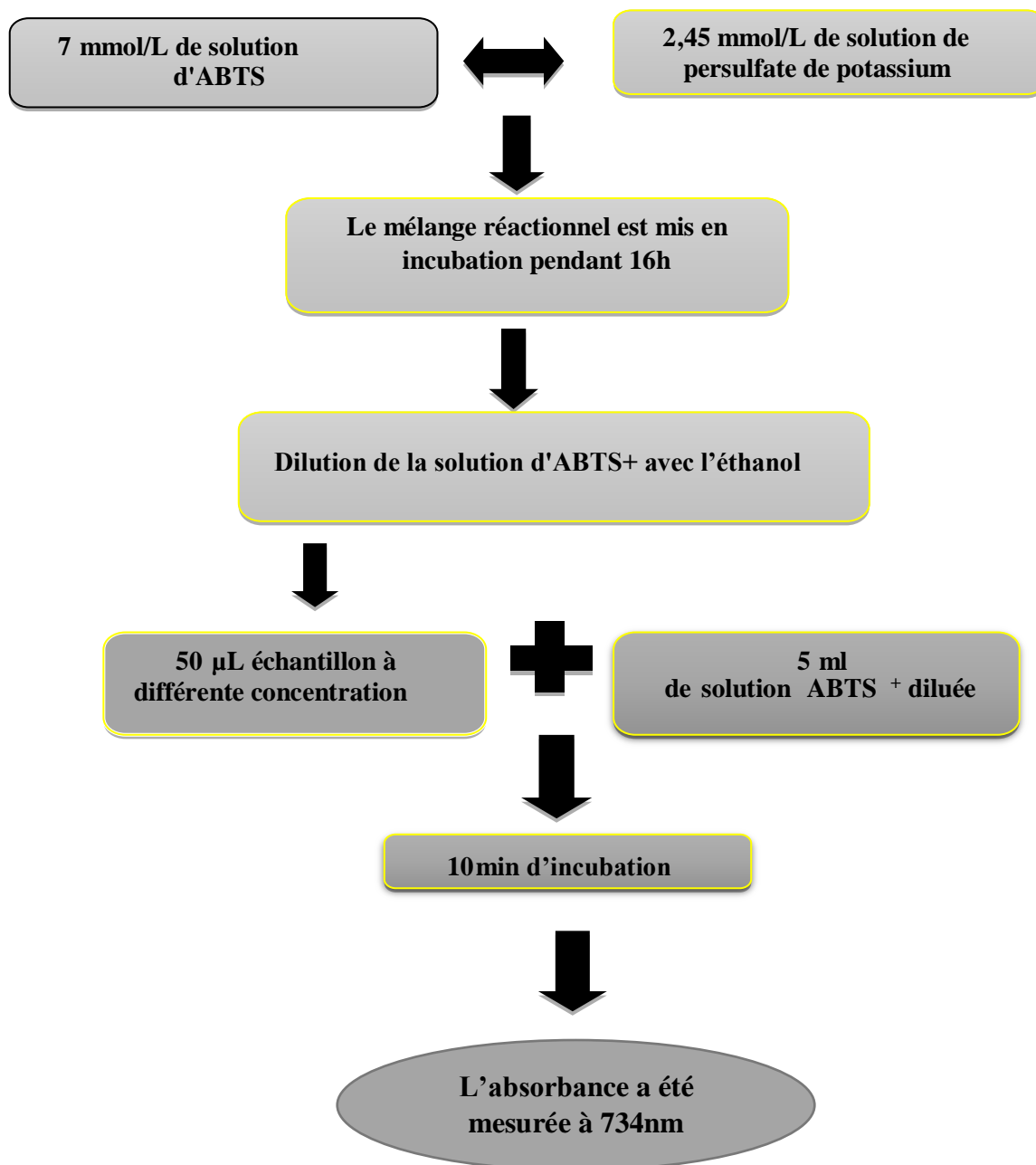


Figure 13 : Protocole de dosage d'ABTS (Huang, 2011).

IV.4.3. Capacité antioxydante déterminée par le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (Boxin et al., 2001).

Le test FRAP a été réalisé selon Benzie et Strain avec quelques modifications (Benzie, 1996). Dans un premier temps, 300 mmol/L de tampon acétate (3,1g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) et 16 mL $C_2H_4O_2$ / a pH = 3,6 est préparée. Le réactif TPTZ à 10mM, dilué dans de l'HCl à 40 mM,

est préparé extemporanément. Le deuxième réactif FeCl_3 à 20 mm est également préparé extemporanément.

Finalement, la solution de travail FRAP est réalisée en mélangeant les trois solutions 25 ml de tampon acétate, 2,5 ml de solution TPTZ et 2,5 ml de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Cette solution doit être impérativement conservée dans un bain à 37°C.

Le test consiste à mélanger, dans des tubes à hémolyse en verre, (0,3 ml) d'échantillon à différentes concentrations (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 et 0,5 mg/ml) a été laissée à réagir avec 9 ml de la solution de FRAP et 300 μl d'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 595 nm après avoir laissé incuber la réaction dans un bain thermostaté à 37 °C à l'obscurité pendant exactement 30 minutes. La droite d'étalonnage est établie à partir des absorbances lues pour la gamme de solutions de sulfate ferreux heptahydraté utilisée comme composé de référence.

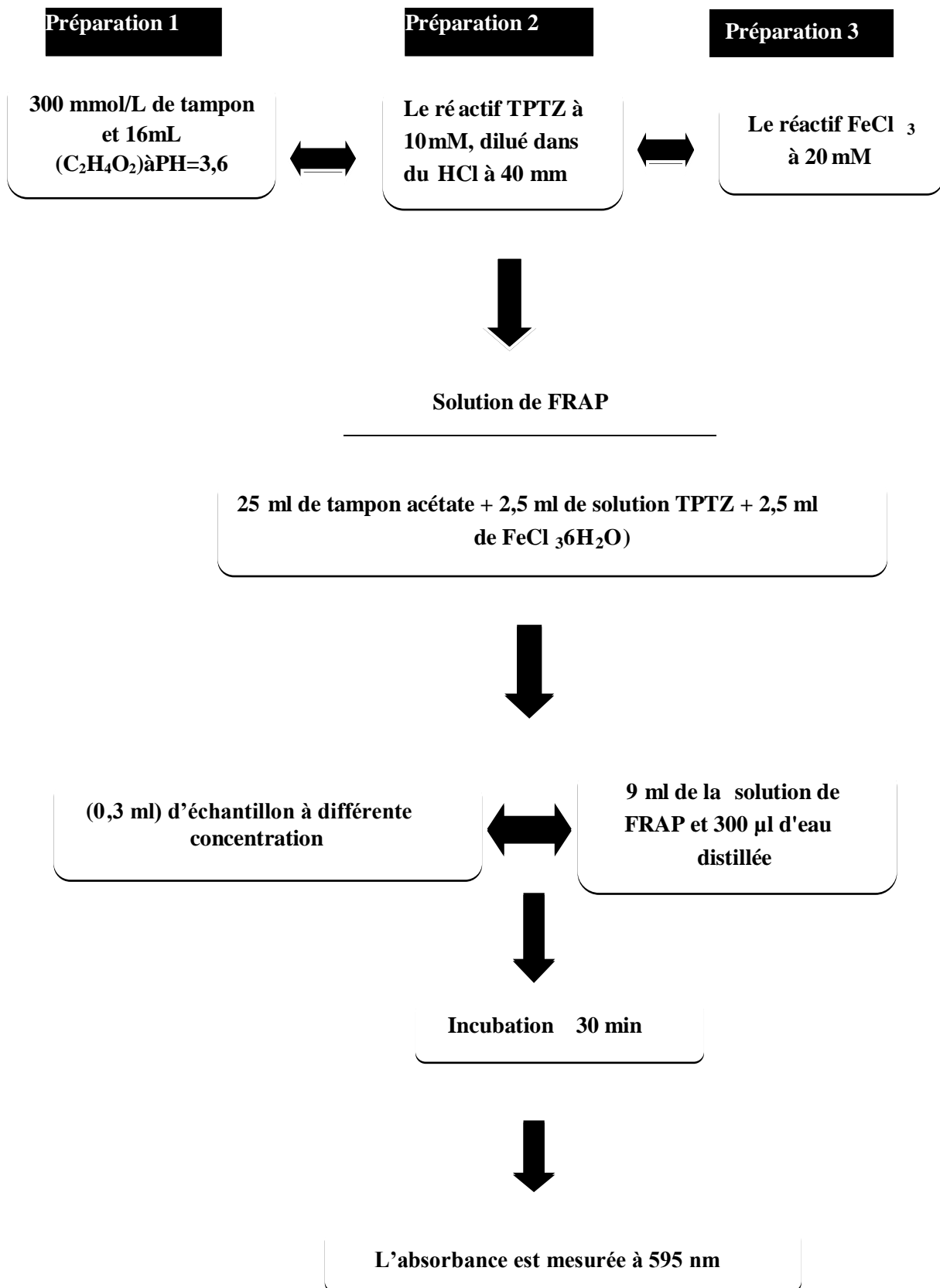


Figure 14 : Protocole de dosage de FRAP (Benzie, 1996).

IV.3.3. Analyses statistiques

Les corrélations ont été établies en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson (r) dans les corrélations linéaires bivariées ($P < 0,01$). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel XL STAT pour Windows.

CHAPITRE V
RESULTATS ET DISCUSSION

V. Résultats et Discussion

V.1. Résultats

V.1.1. Rendement de l'extraction

Les résultats du rendement obtenus de teneur en composés extractibles (TCE) sont présentés dans le **Tableau 10**. Les rendements des trois extraits aqueux d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) montrent une petite différence. C'est ainsi que l'extrait d'*Allium Cepa* enregistrent la valeur la moins élevée (9,75%), suivi du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) (10,25%), puis l'extrait d'*Allium Sativum* (10,25%).

Tableau 10 : Rendement d'extraction d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*)

Extraits	Poids sec utilisée (g)	Poids sec obtenus (g)	Rendement (%)
<i>Allium Cepa</i>	400	39	9,75
<i>Allium sativum</i>	400	41	10,25
Melange (<i>Allium Cepa</i> + <i>Allium sativum</i>)	200+200=400	40,5	10,12

V.1.2. Screening phytochimique

Les tests phytochimique ont été réalisés en utilisant les réactifs de révélation spécifiques. Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*). La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, de turbidité et d'observation visuelle d'un changement de couleur spécifique.

Les résultats expérimentaux des tests effectués sont mentionnés dans le tableau (11), et ont permis de déceler la présence de divers composés tels que les stérols et triterpènes, génines libres, Tanins, Tanins catéchiques, les protéines, les sucres *O*-hétérosides à genine réduits, *C*-hétérosides. Dans les différents extrait *Allium Sativum* *Allium Cepa* et du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) des végétaux étudiés avec différentes proportions.

Tableau 11 : Résultats des tests phytochimique d'*Allium Ceba* ; *Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Ceba* +*Allium Sativum*).

Métabolites secondaires		<i>Allium Sativum</i>	<i>Allium Ceba</i>	Mélange (<i>Allium ceba</i> et <i>sativum</i>)	
Alcaloïdes		--	--	--	
Stérols et triterpènes		+	+++	++	
Caroténoïdes		--	+	+	
Flavonoïdes	Flavones	--	--	--	
	falavonones	--	++	+	
	flavonols	--	--	--	
	Génines libres	+++	+++	+++	
	Leucoanthocyanes	--	+	--	
	flavanes	--	+	+	
Tanins		+	+++	++	
Tanins catéchiques		+	+++	++	
Tanins galliques		--	--	--	
Saponosides		++	--	--	
Coumarines		--	--	--	
Anthocyanes		--	++	+	
Prothocyanidols		++	--	+	
Mucilages		++	--	++	
Oses et holosides		--	+++	+	
Composés réducteurs		--	+++	++	
Stupéfiants		--	--	--	
Protéines		+++	+	++	
Hétérosides cardiotoniques		+	++	+	
Hétérosides cyanogénique		--	--	--	
Dérivés anthracéniques	Anthraquinones libres	--	--	--	
	Anthraquinones combinées	O-hétérosides	--	--	--
		O-hétérosides à genine réduits	+	+++	+
		C-hétérosides	+++	++	++

V.1.3. Teneur en phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Afin de caractériser l'extrait préparé à partir des bulbe *Allium Ceba*, *Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Ceba* +*Allium Sativum*).

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire $y=0,0588x$ et $R^2=0,99$ réalisé par une solution étalon d'acide gallique à différentes concentrations. Les absorbances des échantillons ont été mesurées à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-vis.(**fig.15**)

Les trois extraits des bulbe d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) montrent sa richesse en phénols totaux. C'est ainsi que L'extrait *Allium cepa* enregistre ($100,64 \pm 0,31$) mgEAG/g Suivie par l'extrait aqueux d'*Allium Sativum* et le mélange avec des valeurs ($109,88 \pm 1,67$) mgEAG/g, ($105,51 \pm 0,83$) mgEAG/g respectivement. (**Tab.12**)

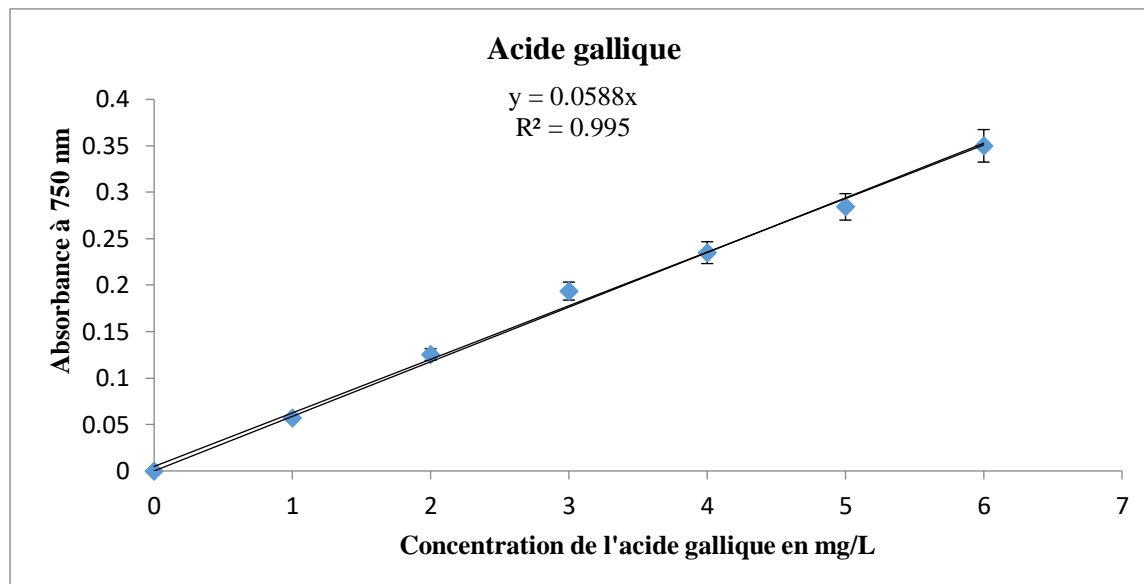


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

V.1.4. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Chang et al., 2002). Les teneurs sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression des droites d'étalonnages de la quercétine et cela via l'équation linéaire $y = 0,5305x + 0,0183$ et $R^2 = 0,98$. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. (**Fig.16**)

La détermination des taux de flavonoïdes totaux montre que l'extrait aqueux d'*Allium Cepa* est riche en flavonoïde totaux ($11,24 \pm 0,3$ mg EQ/g), suivi par celui d'*Allium Sativum* ($18,12 \pm 0,03$ mg EQ/g). Cependant, dans l'extrait issu du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) avec une teneur de $17,05 \pm 0,34$ (**Tab.12**).

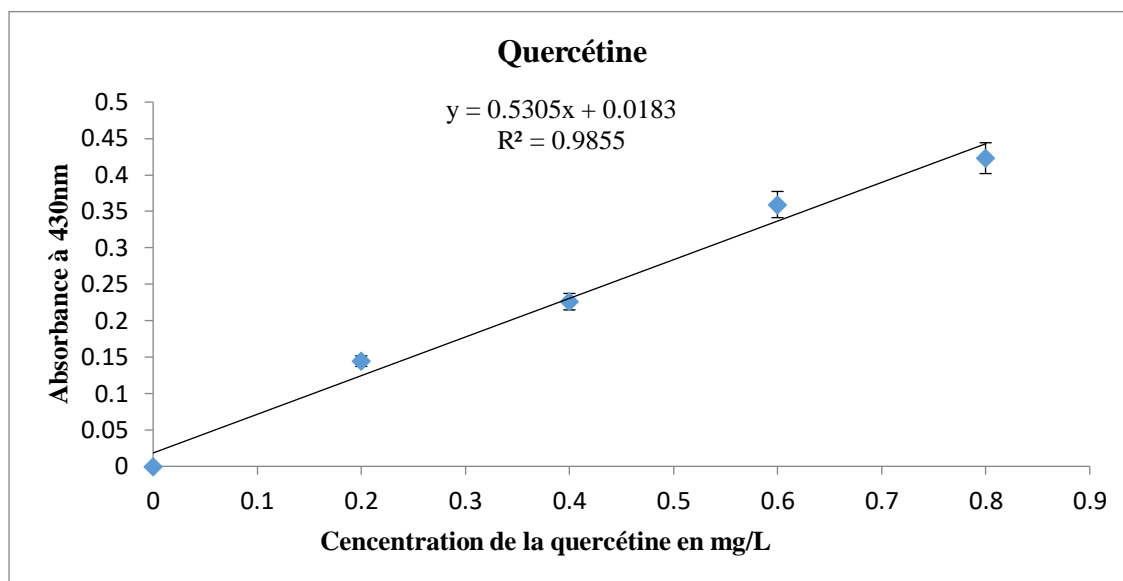


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 12 : Les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*).

Echantillons	Teneur en polyphénol Totaux mg EAG/g	Teneur en Flavonoïde totaux mg EQ/g.
<i>Allium Cepa</i>	100,64±0,31	11,24±0,3
<i>Allium Sativum</i>	109,88±1,67	18,12±0,03
Mélange (<i>Allium Cepa</i> et <i>Allium Sativum</i>)	105,51±0,83	17,05±0,34

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± Ecart type

V.1.5. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH) à la couleur jaune (DPPH- H) mesurable à 700 nm.

Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical DPPH par des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, d'*Allium Sativum* et du mélange (M) *Allium Cepa* et *Allium Sativum* montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la

concentration (Fig.17, 18, 19). L'extrait aqueux d'*Allium Cepa* a présenté une activité antioxydants importante avec un pourcentage d'inhibition de $69,33 \pm 0,44\%$ a la concentration 0,5 mg/ml. Tandis, que l'extrait d'*Allium Sativum* présente une activité antioxydant expressif avec un pourcentage d'inhibition de $81,66 \pm 0,72\%$. Pour le mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*), les résultats exhibés un pourcentage d'inhibition de $81,35 \pm 0,19\%$ par rapport à l'acide ascorbique qui est de $93,18 \pm 1,57\%$ à la concentration 0,3 mg/ml. Les taux d'inhibition du DPPH enregistrés en présence des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) sont inférieurs à celle de l'acide ascorbique.

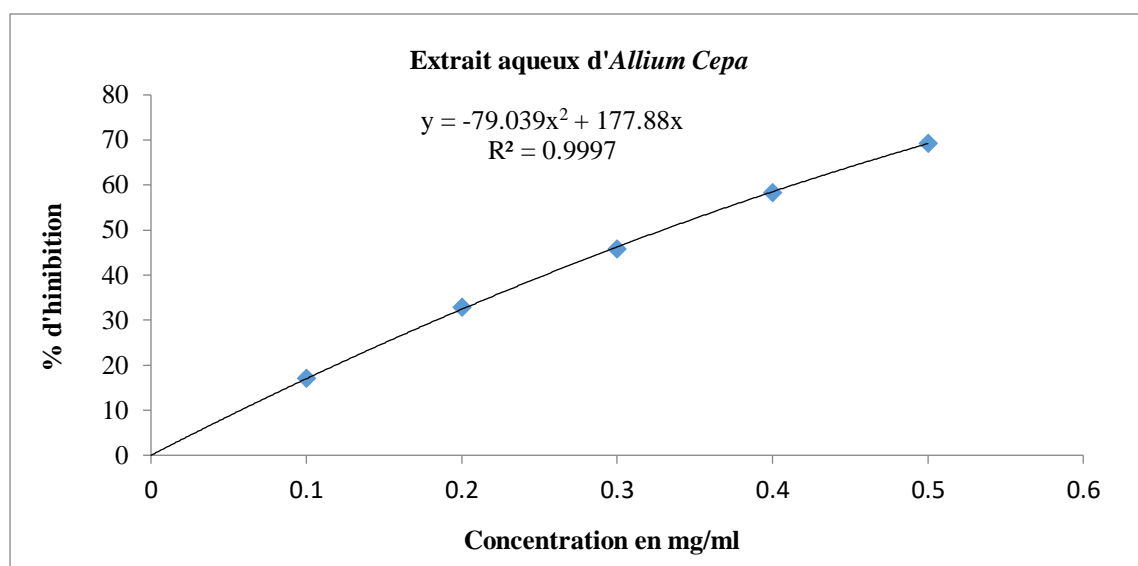


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*.

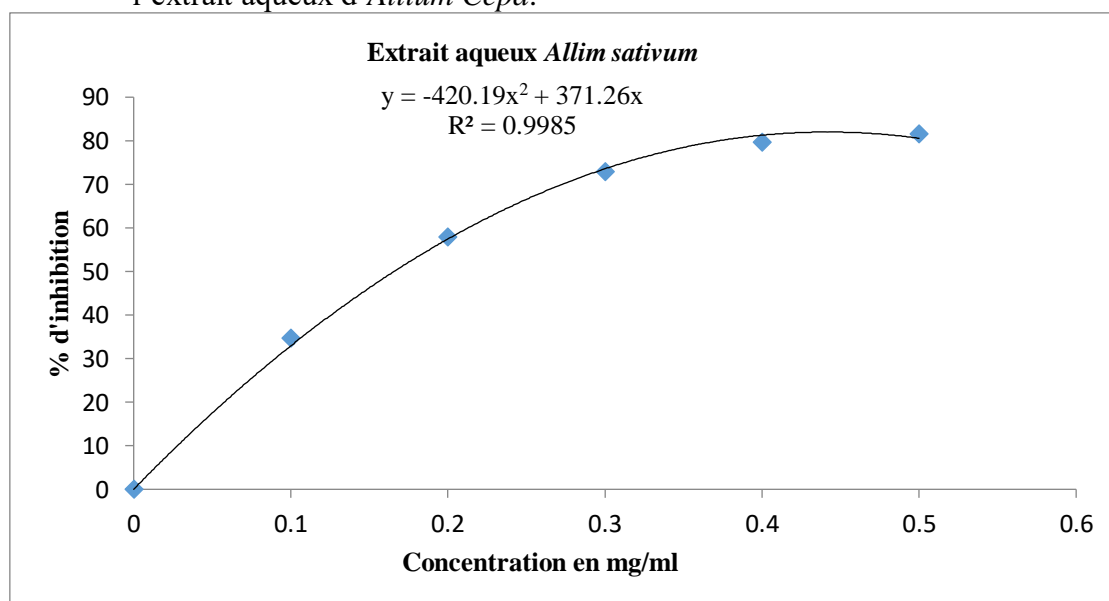


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux *Allium Sativum*.

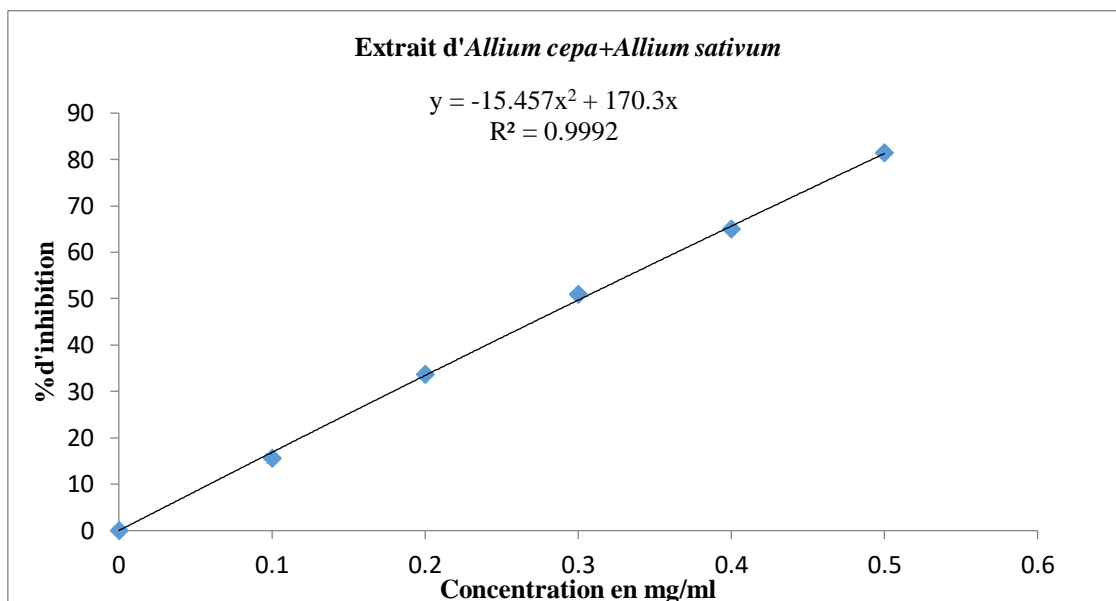


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux du mélange (*Allium cepa*+*Allium sativum*)

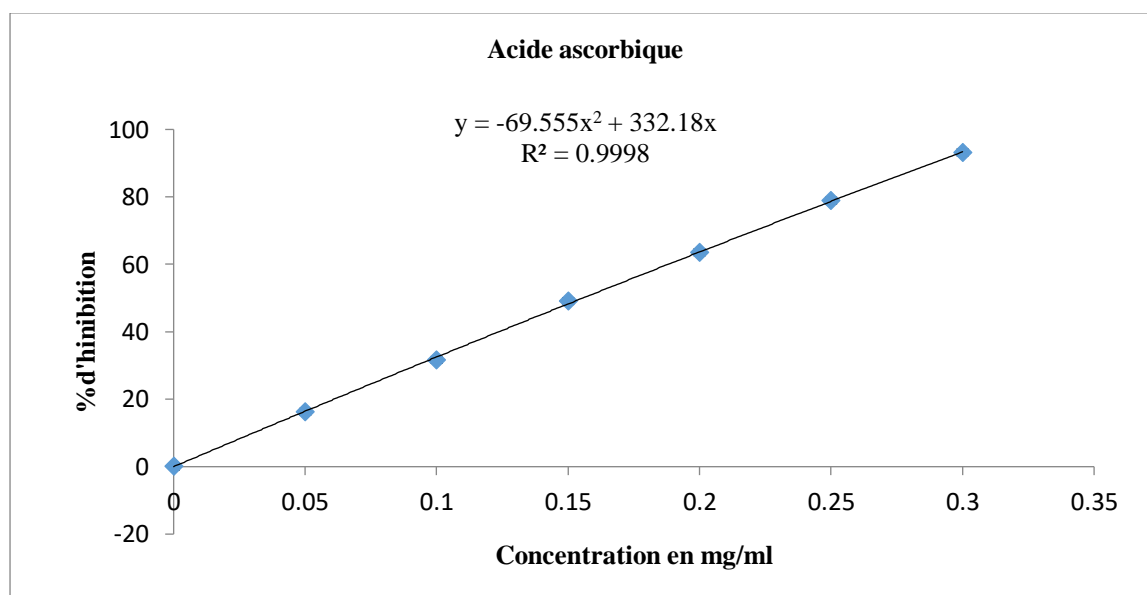


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des Concentrations de l'acide ascorbique.

La concentration de l'échantillon à laquelle le pourcentage d'inhibition est à 50% se définit comme IC₅₀. La valeur de l'IC₅₀ est négativement liée à l'activité antioxydante, plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande. L'extrait aqueux d'*Allium Cepa* a présenté une activité anti radicalaire très importante IC₅₀_{DPPH} (1,32±0,02 mg/ml) ; *Allium Sativum* IC₅₀_{DPPH} (0,43±0,02 mg/ml) et celui du mélange IC₅₀_{DPPH} (0,52±0,03 mg/ml). D'autre part cette activité est inférieure à la

capacité du piégeage du radical DPPH• de la substance de référence acide ascorbique avec une IC50 de l'ordre de (0,152±0,01mg/ml).

V.1.6. Test de la réduction ABTS

Le radical ABTS⁺ est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydant des extraits de plantes, en contact avec un donneur de H⁺ conduit à la formation de l'ABTS⁺ et à la décoloration de la solution à 734 nm. Une comparaison est faite avec la capacité du Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer ABTS⁺. Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical ABTS⁺ par des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) et la référence (Trolox) sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical ABTS⁺ par des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration (**Fig.21, 22, 23**) L'extrait aqueux d'*Allium Cepa* a présenté une activité antioxydants importante avec un pourcentage d'inhibition de 74,37±1,25% a la concentration 0,5 mg/ml. Tandis que, l'extrait *Allium Sativum* présente une activité antioxydant importante avec un pourcentage d'inhibition de 89,68±0,11% et pour le mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*), le pourcentage d'inhibition est de (89,33±0,39%) par rapport au Trolox qui est de 64,02±0,16%.

Les taux d'inhibitions d'ABTS⁺ enregistré en présence des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) sont largement supérieur de celle du Trolox.

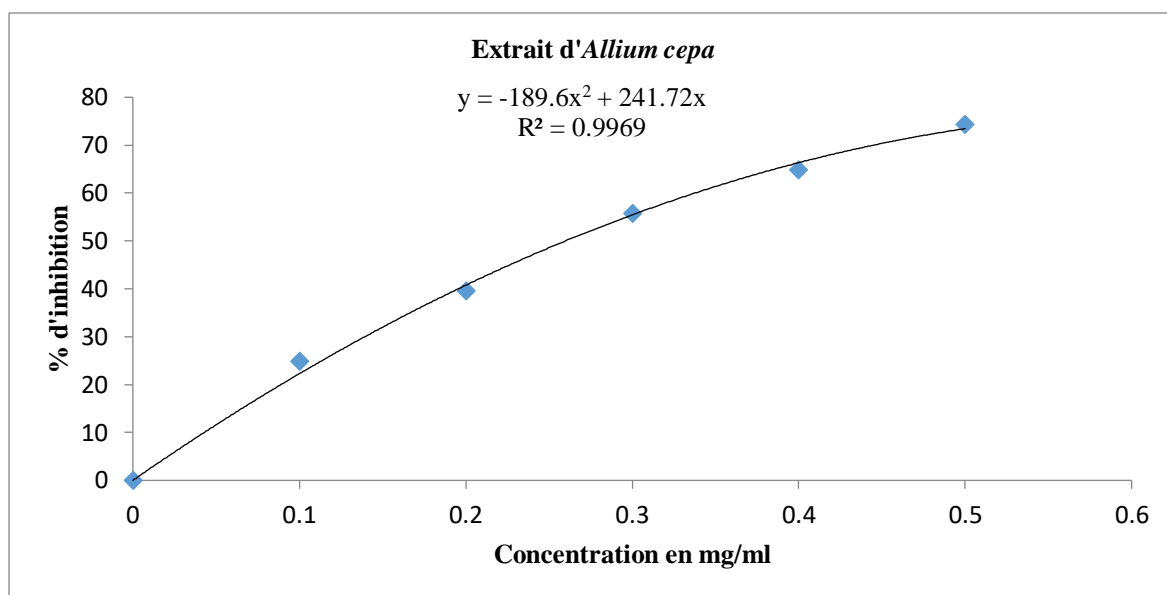


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS+ en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*.

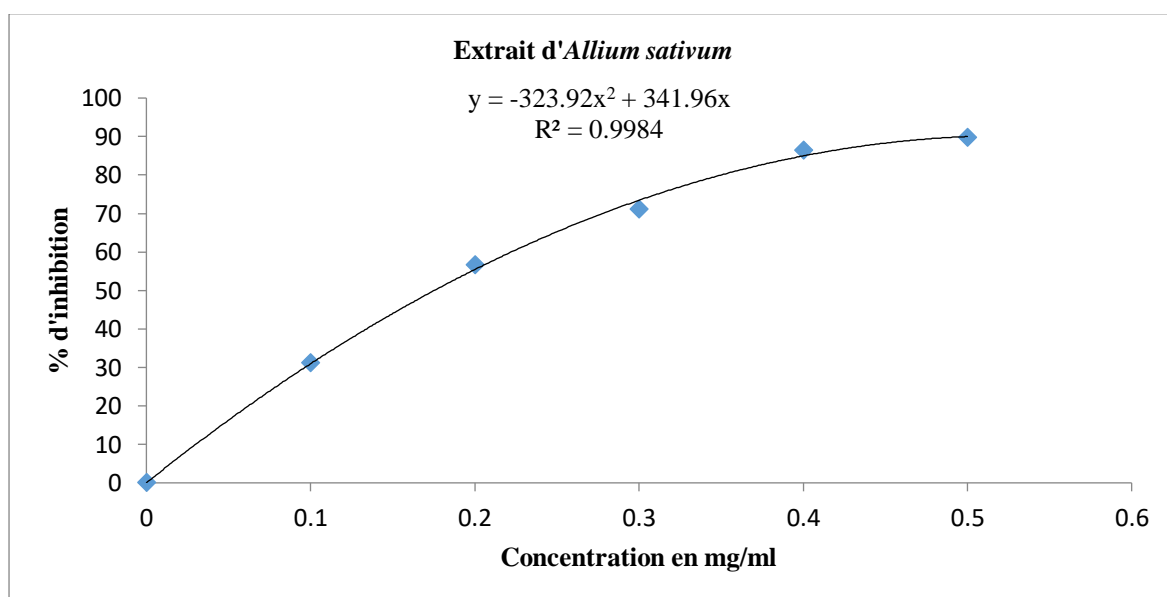


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS+ en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux d'*Allium Sativum*

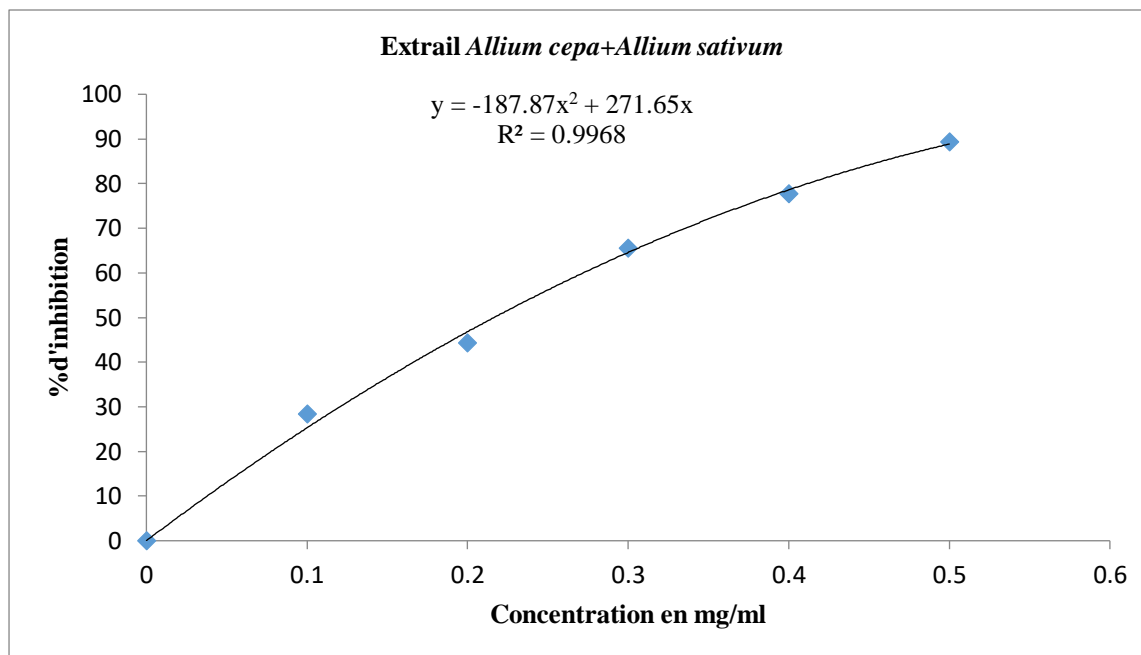


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS+ en fonction des Concentrations de l'extrait aqueux du mélange (*Allium Cepa* et *Allium Sativum*).

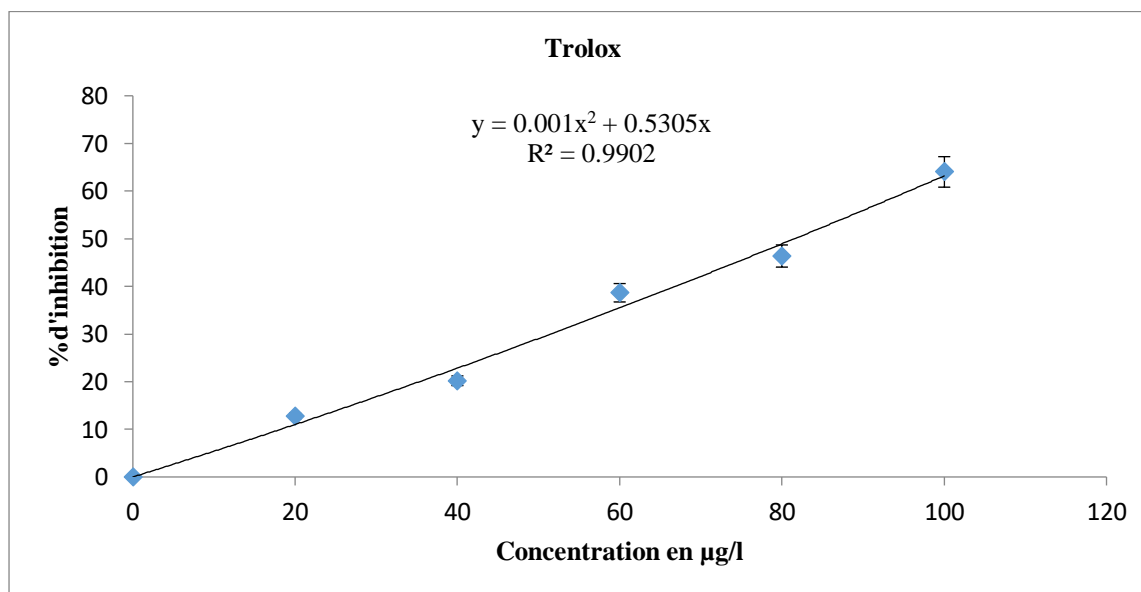


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonctions des concentrations de Trolox

Par ailleurs, il est à constater que l'extrait aqueux d'*Allium Cepa* a présenté une activité anti radicalaire très importante $IC_{50ABTS+}(0,35\pm 0,02\text{mg/ml})$, *Allium Sativum* $IC_{50ABTS+}(0,28\pm 0,015\text{ mg/ml})$ et celui du mélange $IC_{50ABTS+}(0,41\pm 0,015\text{ mg/ml})$. D'autre part cette activité est inférieure à la capacité du piégeage du radical ABTS+ de la substance de référence Trolox $IC_{50ABTS+}$ avec une $IC_{50}(0,08\pm 0,03\text{mg/ml})$.

V.1.7. Test de la réduction du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer ferrique en fer ferreux. La couleur jaune de la solution de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'extrait. Les valeurs des densités optiques en fonction des différentes concentrations permettent de tracer des courbes des extraits aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*).

Les résultats ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées. Pour l'extrait aqueux d'*Allium Cepa* les résultats obtenus dévoilaient le grand pouvoir réducteur. L'absorbance était de $(0,79 \pm 0,1)$ à la concentration 0,5 mg/ml, correspondant à une $IC_{50_{FRAP}}$ de $(0,52 \pm 0,02)$ mg/ml. Pour l'extrait d'*Allium Sativum* l'absorbance était de $(0,88 \pm 0,02)$ à la concentration 0,5 mg/ml, correspondant à une $IC_{50_{FRAP}}$ de $(0,52 \pm 0,02)$ mg/ml. Et pour le mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*). L'absorbance était de $(0,87 \pm 0,1)$ à la concentration 0,5 mg/ml, correspondant à une $IC_{50_{FRAP}}$ de $(0,52 \pm 0,02)$ mg/ml.

De ce fait, Ces extraits ont une activité réductrice supérieure à celui d'Heptahydraté du sulfate ferreux $(FeSO_4)_7H_2O$ $(0,68 \pm 0,01)$ mg/ml avec une IC_{50} de $(0,87 \pm 0,08)$ mg/ml).

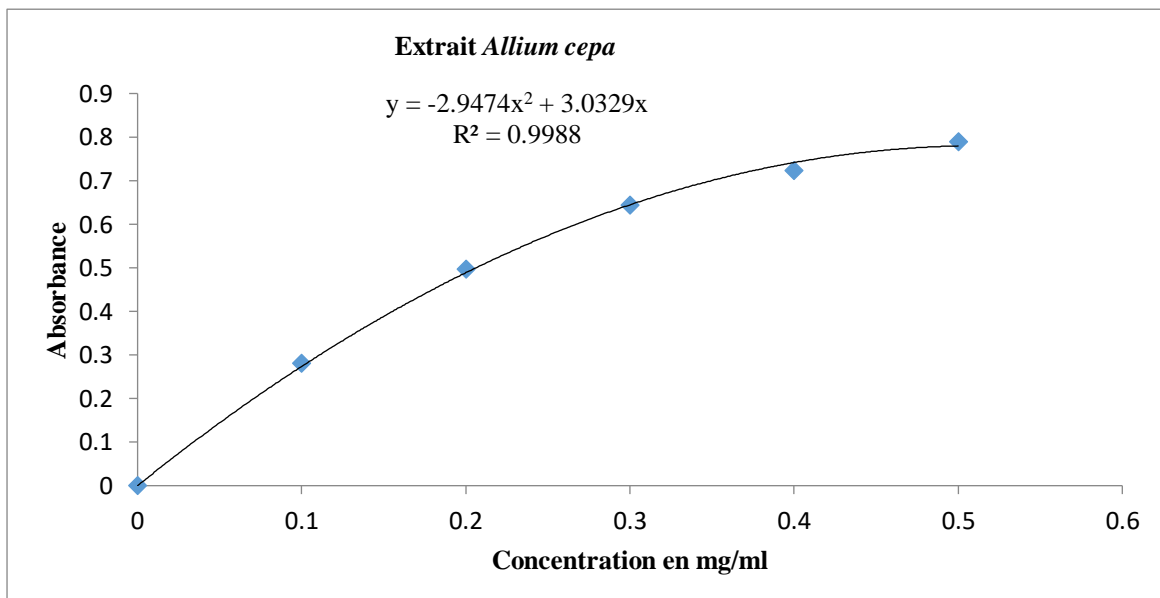


Figure 25 : Absorbance de FRAP en fonction des concentrations de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*.

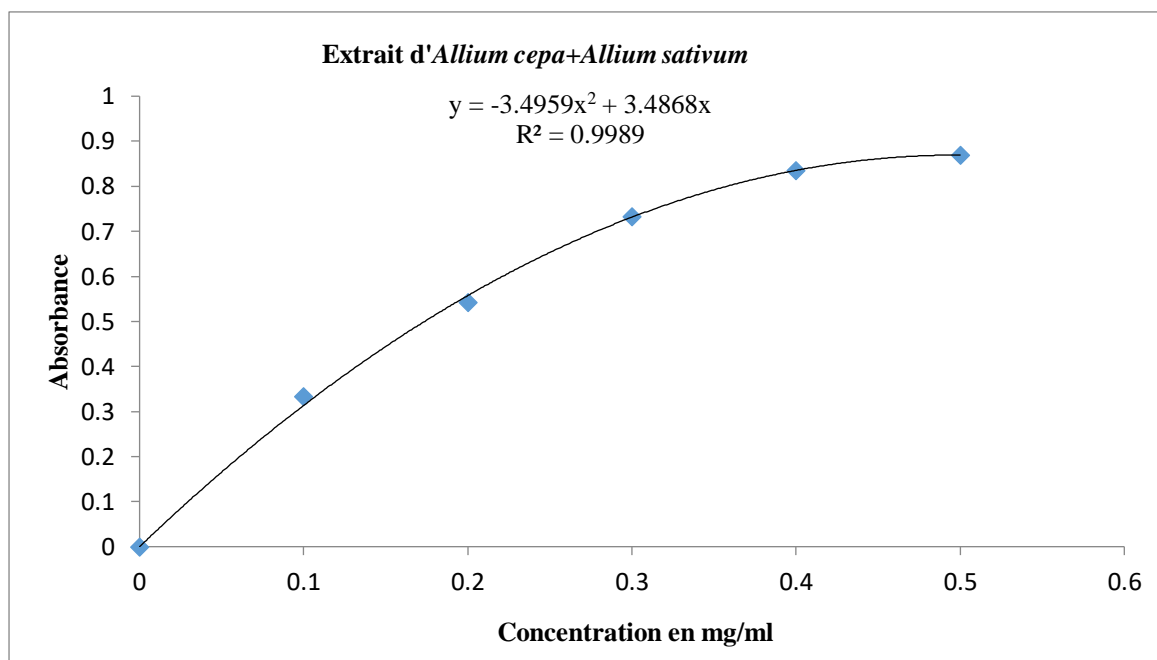
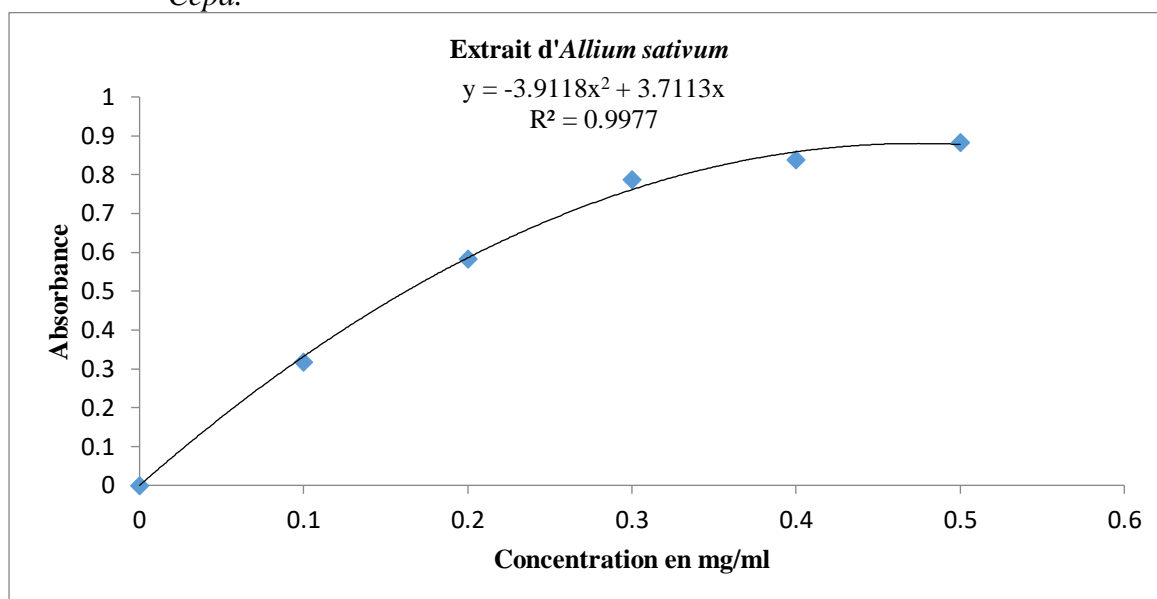


Figure 27 : Absorbance de FRAP en fonction des concentrations de l'extrait *Allium Cepa* et *Allium Sativum*.

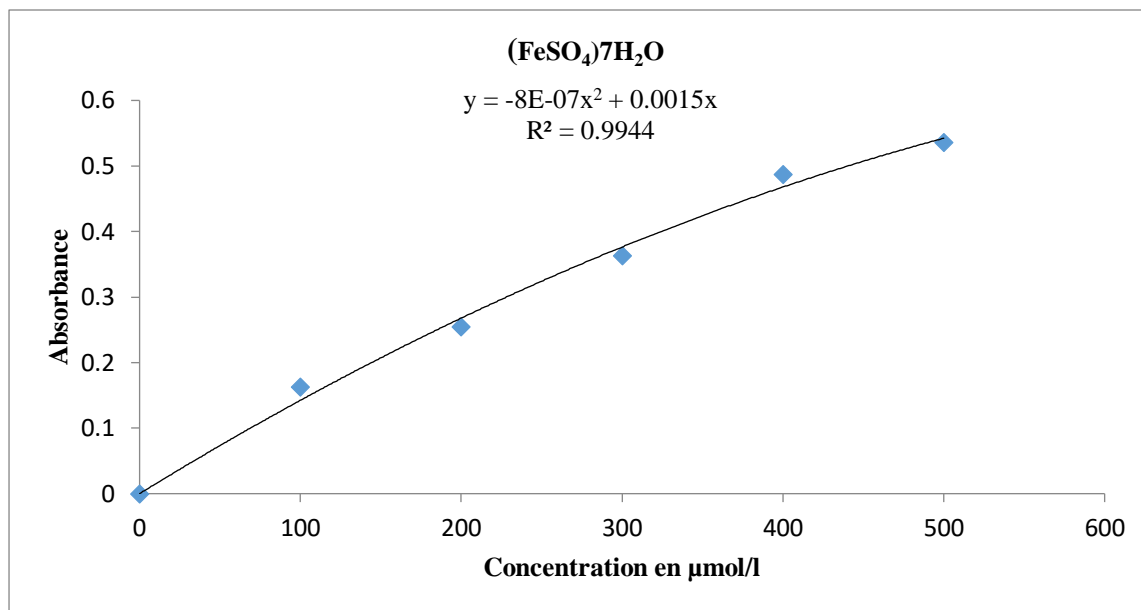


Figure 28 : Absorbance de FRAP en fonction des concentrations de (FeSO₄)₇H₂O.

Tableau 13 : Concentration d'inhibition IC₅₀ de l'extrait des extraits d'*Allium Sativum*; *Allium Cepa* et du mélange Mélange (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) Vis-à-vis du DPPH, ABTS et de FRAP.

Extraits	IC ₅₀ en mg/ml		
	IC ₅₀ _{DPPH}	IC ₅₀ _{ABTS}	IC ₅₀ _{FRAP}
<i>Allium Cepa</i>	1,32±0,02	0,35±0,02	0,21±0,01
<i>Allium Sativum</i>	0,43±0,02	0,28±0,01	0,17±0,02
<i>Allium Sativum</i> + <i>Allium Cepa</i>	0,52±0,03	0,41±0,03	0,4±0,12
Acide ascorbique	0,152±0,1		
Trolox		0,08±0,03	
(FeSO ₄) ₇ H ₂ O			0,04±0,01

Les résultats de l'IC₅₀ de DPPH, ABTS et FRAP (**Tab.13**) des extraits d'*Allium Sativum* ; *Allium Cepa* et du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) exhibe une capacité de piéger des radicaux DPPH, ABTS et FRAP très importante.

V.1.8. Corrélation de DPPH, ABTS et le FRAP

Le coefficient de Pearson est un indice reflétant une relation linéaire entre deux variables continues. Le coefficient de corrélation varie entre -1 et +1, 0 reflétant une

relation nulle entre les deux variables, une valeur négative (corrélation négative) signifiant que lorsqu'une des variables augmente, l'autre diminue. Tandis qu'une valeur positive (corrélation positive) indique que les deux variables varient ensemble dans le même sens.

Les résultats obtenus montrent une corrélation élevée entre l'activité antioxydant (DPPH, ABTS et le FRAP) de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*, *Allium Sativum* et du Mélange (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) avec une corrélation maximale de $r=0,922$.

Tableau 14: Les coefficients de corrélation entre l'activité antioxydant (DPPH, ABTS et FRAP) des extraits aqueux d'*Allium Cepa* (AC), *Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*).

Variables	DPPH AC	DPPH AS	DPPH M	ABTS AC	ABTS AS	ABTS M	FRAP AC	FRAP AS	FRAP M
DPPH AC	1	0,952	0,999	0,996	0,981	0,996	0,983	0,956	0,977
DPPH AS	0,952	1	0,945	0,968	0,989	0,960	0,992	0,999	0,992
DPPH M	0,999	0,945	1	0,996	0,974	0,996	0,979	0,951	0,972
ABTS AC	0,996	0,968	0,996	1	0,986	0,999	0,991	0,973	0,989
ABTS AS	0,981	0,989	0,974	0,986	1	0,981	0,996	0,987	0,996
ABTS M	0,996	0,960	0,996	0,999	0,981	1	0,985	0,965	0,985
FRAP AC	0,983	0,992	0,979	0,991	0,996	0,985	1	0,994	0,997
FRAP AS	0,956	0,999	0,951	0,973	0,987	0,965	0,994	1	0,993
FRAP M	0,977	0,992	0,972	0,989	0,996	0,985	0,997	0,993	1

D'autre part, une puissante corrélation a été montrée entre les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes et l'activité antioxydant des extraits aqueux d'*Allium Sativum*, *Allium Cepa* et du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*). La corrélation la plus élevée est de $r=0,999$ (Tab.15).

Tableau 15: Les coefficients de corrélation entre les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes et l'activité antioxydant des extraits aqueux d'*Allium Sativum*, *Allium Cepa* et du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*).

Variables	DPPH AC	DPPH AS	DPPH M	ABTS AC	ABTS AS	ABTS M	FRAP AC	FRAP AS	FRAP M	Flavonoïde AC	Flavonoïde AS	Flavonoïde M	Polyphénol e AC	Polyphénol e AS	Polyphénol e M
DPPH AC	1														
DPPH AS	0,952	1													
DPPH M	0,999	0,945	1												
ABTS AC	0,996	0,968	0,996	1											
ABTS AS	0,981	0,989	0,974	0,986	1										
ABTS M	0,996	0,960	0,996	0,999	0,981	1									
FRAP AC	0,983	0,992	0,979	0,991	0,996	0,985	1								
FRAP AS	0,956	0,999	0,951	0,973	0,987	0,965	0,994	1							
FRAP M	0,977	0,992	0,972	0,989	0,996	0,985	0,997	0,993	1						
Flavonoïde AC	0,867	0,833	0,886	0,906	0,811	0,928	0,840	0,848	0,882	1					
Flavonoïde AS	-0,837	-0,799	-0,858	-0,880	-0,775	-0,904	-0,807	-0,816	-0,853	-0,998	1				
Flavonoïde M	0,864	0,895	0,843	0,818	0,911	0,786	0,889	0,882	0,848	0,498	-0,446	1			
Polyphénole AC	-0,758	-0,799	-0,732	-0,701	-0,822	-0,661	-0,792	-0,782	-0,739	-0,333	0,277	-0,984	1		
Polyphénole AS	0,535	0,589	0,501	0,462	0,620	0,413	0,578	0,566	0,509	0,043	0,016	0,888	-0,956	1	
Polyphénole M	-0,600	-0,651	-0,568	-0,531	-0,680	-0,485	-0,641	-0,629	-0,576	-0,122	0,064	-0,922	0,977	-0,997	1

V.3. Discussion

L'étude expérimentale a permis de faire une estimation qualitative et quantitative sur les plantes *Allium Cepa* et *Allium Sativum*. Ces plantes sont très riches en différents composés métaboliques qui pourrait être utilisé dans le domaine pharmaceutique et médical.

Le rendement de l'extrait d'*Allium Sativum* étudié était de l'ordre de 10,5 % nettement supérieur de celui de l'étude de **Belaouinet et Kasm (2019)** avec un rendement de 5,52% et inférieur de celui de **Bakli (2020)**, où le rendement était équivalent de 16,68 %. Par contre, le rendement de l'extrait d'*Allium Cepa* étudié était de l'ordre de 9,5 % un peu inférieur de celui des travaux de **Razavi et Kenari (2016)** évalué à 11,22%. Le rendement du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) est de 10,12% qui sont l'intermédiaire entre le rendement d'*Allium Sativum* et celui d'*Allium Cepa*. Les rendements varient non seulement d'une plante à une autre et d'une région à une autre mais, également en fonction des paramètres de l'extraction des polyphénols, la température, le solvant d'extraction, le temps d'extraction et le coefficient de diffusion du solvant. (**Bouacherine, Guermit, 2020**).

Les résultats du screening phytochimique des extraits aqueux d'*Allium Cepa* (AC), d'*Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*) ont permis la présence des **terpénoïdes** dans l'*Allium Cepa* qui est absent dans *Allium Sativum* et des **saponosides** dans l'*Allium Sativum* qui est absent dans l'*Allium Cepa*. Cependant on décèle la présence de **Stérols et triterpènes des Génines libres, Tanins catéchiques et des protéines** dans les extraits aqueux d'*Allium Cepa* (AC), d'*Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* + *Allium Sativum*). D'autre part, une absence a été remarqué des molécules comme **les Alcaloïde, les Hétérosides, les cyanogénique, les tannins galliques, les stupéfiants et les coumarines** dans les végétaux étudiés. Ces résultats sont plus au moins similaires à celui de l'étude d'*Allium Cepa* (AC), *Allium Sativum* (AS) réalisé par **Boucetta et Ben Mesbah (2021)**.

La teneur en polyphénols de l'extrait aqueux d'*Allium Sativum* analysé était de l'ordre de $109,88 \pm 1,67$ mgEAG/mg, nettement supérieur à ceux de **Soto et al (2016)**, dans leur étude, la teneur en polyphénols totaux était de $0,59 \pm 0,01$ µg/mg d'extrait. Et nettement inférieur à ceux de **Douaouya (2017)**, dont la teneur en polyphénols totaux était équivalente de $565,43 \pm 18,14$ mg EAG/g. Par ailleurs, la teneur en polyphénols de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa* analysé était de l'ordre de $100,64 \pm 0,31$ mgEAG/mg. Ces résultats sont similaires à ceux indiqués par **Razavi et Kenari (2016)**, dont la teneur en polyphénols totaux était équivalente à 105 mg

EAG/g et Nettement supérieur à celui de **Mudathir et al., (2017)** qui ont enregistré une teneur en polyphénols d'ordre $28,94 \pm 2,331$ mg EAG/g d'extrait pour l'extrait d'*Allium Cepa*. La teneur en polyphénols du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) est de l'ordre de $105,51 \pm 0,83$ mg EAG/g.

La teneur en flavonoïdes de l'extrait étudié d'*Allium Sativum* était de l'ordre de $18,12 \pm 0,03$ mgEQ/mg d'extrait, nettement supérieure à ceux de **Gulfraz et al (2014)** ; la teneur en flavonoïdes était de l'ordre de $(0,451 \pm 0,03)$ ugEQ/mg) et la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux d'*Allium Cepa* était de l'ordre de $11,24 \pm 0,3$ mgEQ/mg. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Mudathir et al., (2017)** qui ont rapporté que la teneur en flavonoïdes de l'extrait d'*Allium Cepa* correspond à $336,10 \pm 19,25$ mg QE /g extrait. Alors, **Razie Razavi et al., (2016)** ont enregistré des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de $496,14$ mg EQ/g pour l'extrait d'*Allium Cepa*. La teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux du mélange M (*Allium Cepa* et *Allium Sativum*) était de l'ordre de $17,05 \pm 0,34$ mgEQ/mg. L'extrait du mélange est l'intermédiaire entre les deux plantes.

Les différences d'activité antioxydante déterminées par différentes méthodes accentue l'importance d'utiliser plusieurs méthodes pour évaluer cette capacité. D'après les résultats obtenus lors du test de mesure du radical DPPH, Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. De ce fait, l'extrait aqueux d'*Allium Sativum* peut changer le radical libre stable 2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de $0,43$ mg/ml, et un pourcentage d'inhibition de $81,66\%$ montrant une activité antioxydante importante comparable à celui de **Menacer et al., (2017)** avec une valeur d'IC50 de $0,97$ mg/ml, et un pourcentage d'inhibition de $83,3\%$. L'extrait aqueux d'*Allium Cepa* possède une bonne activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH avec une valeur d'IC50 de l'ordre de $1,32 \pm 0,02$ mg/ml et un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $69,33\%$ à une concentration de $0,5$ mg/ml. Cette activité antiradicalaire des extraits d'*Allium Cepa* peut être attribuée à la présence des flavonoïdes qui semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur structure chimique idéale (**Benmalek et al., 2013**). Ces résultats sont largement supérieurs à celui obtenus par **Ouedraogo et al. (2015)** avec un pourcentage d'inhibition de $36,83\%$. Pour l'extrait aqueux du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) l'activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH est très

importante. Elle est due par la synergie entre *Allium Sativum* et *Allium Cepa* avec une valeur d'IC50 de $0,52 \pm 0,03$ mg/ml et un pourcentage d'inhibition de 81,35%.

Selon les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺. Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. L'extrait aqueux d'*Allium Sativum* possède une excellente activité antiradicalaire vis-à-vis du radical d'ABTS⁺ Avec une valeur d'IC50 de l'ordre de $0,28 \pm 0,01$ mg/ml et un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 89,68% à une concentration de 0,5mg/ml. Ces résultats sont supérieurs à ceux de **Xu Yang et al., (2014)** avec un pourcentage d'inhibition de 54,7%. Pour l'extrait aqueux d'*Allium Cepa*, l'activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS⁺ est très importante avec une valeur d'IC50 de l'ordre de $0,09 \pm 0,02$ et un pourcentage d'inhibition de 74,37% Ces résultats sont largement supérieurs à ceux de **Ouedraogo et al., (2015)** avec un IC50 de $0,16 \pm 0,01$. L'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) vis-à-vis du radical ABTS⁺ est très importante. Elle est due grâce à la synergie entre *Allium Sativum* et *Allium Cepa* avec une valeur d'IC50 de $0,41 \pm 0,01$ et un pourcentage d'inhibition de 89,33%.

Le pouvoir réducteur de l'extrait d'*Allium Sativum* vis-à-vis du FRAP étudié était de l'ordre de $0,88 \pm 0,02$ mg/ml. D'autres travaux réalisés par **Lu et al., (2011)** avec utilisation de trolox comme un standard, les valeurs d'activités antioxydants étaient de l'ordre de $8,94 \pm 0,31$ μmol trolox /g. En effet, la plante d'Ail est riche en sucres et saponines qui possèdent une activité réductrice (**Bouabbache et Khouchane, 2018**). Les résultats de l'activité antioxydante des extraits d'*Allium Cepa* évaluée par le test de potentiel réducteur (FRAP) révèlent que cet extrait possède un pouvoir réducteur puissant avec des IC50 de l'ordre de $0,21 \pm 0,1$ mg /ml. Plusieurs études ont évalué la capacité réductrice des extraits d'*Allium Cepa* dont on peut citer **Mudathir et al., (2017)** que l'extrait d'*Allium Cepa* présente un pouvoir réducteur important du bulbe. **Kaur et al., (2016)** ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*Allium Cepa* présente une activité réductrice importante et supérieure à celle obtenue par l'extrait aqueux. L'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux du mélange M (*Allium Sativum* et *Allium Cepa*) vis-à-vis du radical FRAP est importante. Elle est due grâce à la synergie entre *Allium Sativum* et *Allium Cepa* avec une valeur d'IC50 de $0,26 \pm 0,01$ mg/ml.

Le coefficient de corrélation est indépendant des unités de mesure des variables, ce qui autorise les comparaisons, La mesure est normalisée (**Revelle, 2015**). Ces résultats obtenus corroborent aux résultats de **Soto et al. (2016)** de l'extrait *Allium Cepa* et *Allium Sativum* qui montrent une forte corrélation positive entre les tests de piégeage des radicaux libre (DPPH,

ABTS+ et FRAP). D'autre part, une puissante corrélation a été montrée entre les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes et l'activité antioxydant des extraits aqueux d'*Allium Sativum*, *Allium Cepa* et du mélange M (*Allium Sativum et Allium Cepa*). La corrélation la plus élevée est de $r=0.999$.

Cette différence constatée entre les résultats obtenus peut être due à divers facteurs, notamment, les conditions environnementales, climatiques et la période de récolte, sans oublier les conditions expérimentales et le capital génétique, héréditaire (**Bouabbache et Khouchane, 2018**).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVE

Conclusion et perspective

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a suscité un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités antioxydantes (pouvoir réducteur, activité anti radicalaire), au dosage des flavonoïdes et les phénols totaux et au criblage phytochimique des métabolites secondaire contenus dans les extraits aqueux d'*Allium Cepa* (AC), *Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*).

Le criblage phytochimique basé sur les tests spécifiques a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, stérols, saponines et composés réducteurs dans les deux plantes. Ces métabolites secondaires ont une grande valeur thérapeutique et médicinale vis-à-vis le stress environnemental ou oxydatif, en assurant des mécanismes de défenses aux agressions provoquant les maladies.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les extraits analysés montre la richesse d'*Allium Cepa* et *Allium Sativum* par ces métabolites.

L'activité antioxydante est étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), la méthode de réduction du fer (FRAP) et le radical cation (ABTS+). Les résultats du piégeage du radical libre DPPH et celui du radical ABTS+ montrent un pouvoir antioxydant puissant des extraits aqueux d'*Allium Cepa* (AC), *Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*). L'activité antioxydante par la méthode FRAP a également montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées pour l'extrait étudié. De plus, Les trois tests ont montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait. D'après les résultats obtenus, on peut déduire que les extraits testé d'*Allium Cepa* (AC), d'*Allium Sativum* (AS) et du Mélange M (*Allium Cepa* +*Allium Sativum*) sont pourvue d'une activité antioxydante importante.

Les résultats enregistrés aussi bien par les différents dosages et les réactions de caractérisation que par les tests des activités antioxydant ont permis de confirmer l'utilisation d'*Allium Cepa* et *Allium Sativum* en phytothérapie.

L'ensemble de ces résultats ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidences. Il serait souhaitable de compléter et approfondir ce travail par une étude phytochimique plus détaillée.

* Dans un premier temps, faire un fractionnement de ces extraits afin d'identifier les molécules responsables du pouvoir antioxydant, en utilisant des techniques d'identification plus performantes.

* Dans un deuxième, il serait intéressant d'évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes et d'orienter les tests, *in vivo*, afin de déterminer de nouveaux agents thérapeutiques.

* Il serait également intéressant d'évaluer l'activité antifongique, *in vitro*, sur des cultures cellulaires de cellules isolées de l'organisme étudié pour justifier les résultats obtenus, ainsi que sur des souches cancéreuses.

* Enfin d'autres activités biologiques peuvent également être évaluées aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (antidiabétique, antitumorale ... et autres).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Act : KIm jh. (2010). Action anti-bactérienne de l'extrait d'*Allium Cepa* par voie orale contre les bactéries pathogènes. (www.Pubmed.org consulté le 04Avril 2013).

Abderrazak M et Joël R. (2007). *La botanique de A à Z. Ed. Dunod.* Paris.

Ahsan M Chowdhury. (1996). Garlic Extract and Allicin. Broad Spectrum Antibacterial Agents Effective Against Multiple Drug Resistant Strains of *Shigella dysenteriae* type 1 and *Shigella flexneri*, Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholera*. *Phytotherapy Research* P : 329-331.

Allen J. La culture de l'ail – Fiche technique [Internet]. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires Rurales – Ontario. (2009). Disponible sur : <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/09-012w.htm#5>

Aouadi R. Aouidet A. Elkadhi A. (2000). Effect of fresh garlic (*Allium Sativum*) on lipid metabolism in male rats. P : 273-280.

Archana P. Samatha T. Mahitha B. Ramaswamy N. (2012) . Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of *Senna alata* L.Roxb-an Ethnomedicinal plant. *Journal of pharmaceutical and biological research.* Vol(3). P : 82- 85.

Atefeibu, E.S.I. (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii*. Mémoire de Doctorat en pharmacie, Université cheikh Anta Diop, Dakar. Cité par Boudjellal, K.H. (2009).

Ayad, R. (2008). Recherche et détermination structural des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*. Mémoire de magister en chimie organique, Université Mentounri Costantine.

Ayoola G. Coker H. Adesegun S. Adepoju-Bello A. Obaweya K. Ezennia E. (2008). Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Journal of pharmaceutical Research.* Vol(7). P : 1021.

-B-

- Bachmann J.** Cultiver l'ail biologique [Internet]. (2001). Disponible sur :
http://www.organicagcentre.ca/Docs/ATTRA/garlic_production_f.pdf.
- Baiza A. M. Adriana, Q. Jozé A.R. Maldonado-Mendoza I. & Loyola-Vargas V.M. (1998).** Growth patterns and alkaloid accumulation in hairy root and untransformed root cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*,
- Bassene E. Mahamat, B. Lo M. Boye C.S.Faye B. (1995).** Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia* .
- Benavides GA. Squadrito GL. Mills RW. (2007).** Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *Proc Natl Acad Sci USA*. P :17977-17982.
- Benmeddour T.Laouar H. Benabdi A. et Brahimi S. (2015).** Evaluation of antibacterial and antifungal activity of extracts from three species of the genus *Allium* : *A. cepa*, *fistulosum* and *sativum* grown in agricultural area of doussen (wilaya of Biskra). *Courrier du Savoir*. P :19, 9-14
- Bernice D. (2009).** Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail. Université de Liège. P : 2-10.
- Borek C. (2001)** Effets antioxydantes de l'extrait l'ail sur la santé des personnes âgées, *Journal Nutrition*, Boston, USA.
- Boizot N.& Charpentier.J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*.
- Bouzerگونه F. (2003).** Etude phytochimique de la plante *Helianthemum Kahiricum*. Thèse de magister, Université Hadj lahkdar-Batna.
- Bremness L. (1994).** Larousse des Plantes Aromatiques et Médicinales : 700 espèces. Paris. P :304.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Paris : Tec&Doc ; Cachan : Eminter. P : 1120.
- Bruneton J. (1993).** *Pharmacognosie*, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
- Bruneton J. (1999).** *Pharmacognosie, Phytochimie-Plantes médicinales* (3è éd). Paris: Techniques et documentations.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie- Plantes médicinales. (4è éd). Paris : Techniques et documentations.

Budic-Letoc I. Lovric T. Pezo I. Klujzuric J.G. (2005). Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety.
Food Technology and Biotechnology. Vol(1). P: 47-53.

-C-

Caru S et Brumagne M. (2016) Diététiciennes au réseau santé diabète.
www.resausantediabete.be.

Collin. S. Creast G. (2011). Polyphynol et procédé. 1ère Ed, Lavoisier: paris. **Croteau R. Kutchan T.M. Lewis N.G. (2000).** Naturel products (Secondary metabolites).
Biochemistry & Molecular Biologie of plants.

-D-

Dethier B. (2010). Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail. Mémoire de Master, Université de Liege. Belgique.

Djahra, A.B. (2015). Cours phytochimie II 2eme Année master. Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued.

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. Vol(97). P : 654-660.

Dufresne C. Ouellet C. (2009). Filière des plantes médicinales biologiques du Québec (*Allium sativum*). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation de Québec (MAPAQ). P :5-7.

-E-

Elrod JW. Calvert JW. Morrison J. (2007). Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemiare perfusion injury by preservation of mitochondrial function. Proc Natl Acad Sci USA. P :155.

Eyo J.E Ozougure J.C. P.C.Echi. (2011). Hypoglycaemic effects of *Allium cepa*, *Allium sativum*, and *Zingiber officinale* aqueux extracts on Alloxane induced Diabetic rattus Novergicus, Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences. P : 121-126.

Eyo J. E Ozougure J.C. P.C. Echi. (2011). Hypoglycaemic effects of *Allium cepa*, *Allium sativum*, and *Zingiber officinale* aqueux extracts on Alloxane induced Diabetic rattus Novergicus, Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences. P :121-126.

El Haib A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Mémoire de doctorat en Chimie organique et catalyse, Université de Toulouse.

Emerenciano V.P.Barbosa K.O. Scotti M. T. & Ferriro M.J.P. (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society*.

-F-

Favier JC. Ireland Ripet J. Toque C. Feinberg M. (1994). Répertoire général des aliments. Ciquel Tec et Doc /Paris. P : 897.

-G-

Garnier G. Bezanger-Beauquesne L. Debraux G. (1961) Ressources médicinales de la flore française. Vigot-Paris. P : 1511.

Ghasemzadeh A. & Ghasemzadeh N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*.

Ghestem A. Segun E. Paris M. et Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie-Homéopathie. Ed, Lavoisier Tec et Doc: Paris

Girre L. (1980). Connaître et reconnaître les plantes médicinales. Rennes : Ouest France. P : 333.

Goetz P. Ghedira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Université de Monasti Springer-Verlag France, Paris. P :216.

Govindan V.P. Panduranga A.N. Murthy P.K. (2016). Assessment of in vivo antimalarial activity of arteether and garlic oil combination therapy. *Biochemistry and Biophysics Reports*. P : 359.

-H-

Hamdini S. (2009) - La culture d'oignon, Université sidi Med Ben abdellah Fès, Licence.

Harenberg J. Giese C. Zimmermann R. (1988). Effects of dried garlic on blood coagulation, fibrinolysis, platelet aggregation, and serum cholesterol levels in patients with hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*. P :247-249.

Hassan HT. (2004). Ajoene (Natural garlic compound): A new anti-leukaemia agent for AML therapy. *Leuk Res*. P : 667-671.

Hughes BG. Lawson D. (1991). Antimicrobial effects of *Allium sativum* L garlic compounds and commercial garlic supplement product. In phytotherapy research. P : 1.

Hess. (2002). *Alkaloids, nature's curse or blessing* (1^é éd). Ed. Wiley-VCH, New York: USA

Hopkins W.G. (2003). Assimilation du carbone et productivité, (2^é éd). (R, Sarge, Trad.). Ed: de boeck université.

Hoffmann L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse del'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de doctorat en biologie moléculaire et cellulaire. Université Louis Pasteur - StrasbourgI. Frensh.

Hernandez Ochoa L.R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat en Sciences des Agro ressources, Université de Toulouse.

Harborne J. B. & Herbert B. (1995). *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis.

Houmani Z. (1994). Effet de séchage sur la composition en alcaloïdes tropaniques d'une plante médicinale. *Datura stramonium* L. Mémoire de Magistère.

-I-

Imad M. Eldin T. Elhadi MA. Elwahab HM. (2010). Étude préliminaire des effets cliniques d'hypoglycémie de *Allium cepa* (oignon rouge) de type 1 et de type 2 chez les diabétiques. P : 71-77.

-J-

Jung S. (2005). Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardiovasculaires liées àl'hypercholestérolémie. Université Henry Poincare-Nancy 1. P : 18-19.

-K-

Kaur S.J. Grover. I.S. & Kumar S. (2000). Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and chemical toxicology*.

King A. & Young G. (1999). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Jof the American dietetic association*. P :213-218.

- Kolodzie J. Kayser O. Latte K.P. & Ferreira D. (1999).** Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. *Planta medica*.
- Kosalec I. Bakmaz M. Pepeljnjak S. Vladimir-Knez E.I.C.S. (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* Vol(54). P: 65-72.
- Krief S. (2004).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Mémoire de doctorat en écologie et chimie Des Substances Naturelles, Université De Muséum National.

-L-

- Lamarti A. Badoc A. Deffieux G. et Carde J-P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes (II- La chaîne isoprénique). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* P :79-99.
- Lamarti, A. Badoc A. Deffieux G. et Carde J-P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes (III- Monoterpènes synthétases). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*
- Lefer DJ. (2007).** A new gaseous signaling molecule emerges : cardiopro-TECTIVE role of hydrogen sulfide. *Proc Natl Acad Sci USA.* P : 17907-17908.
- Loomis D. & Croteau R. (1980).** Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In : P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function.* Academic Press.
- Lutge U. Kluge M. Bauer G. (2002).** *Botanique* (3^e éd). Technique et documentation. Lavoisier. Paris.
- Lysette Bossokpi I.P. (2003).** Etude des activités biologiques de *fagara zanthoxyloides*.

-M-

- Malecky M. (2008).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Mémoire de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie), l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Paris.
- Malešev D. & Kuntić V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.*

- Maria R. Shirley M. Xavier C. Jaime S. David V. Rosa S. Jodie D. (2017).** Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *J. King Saud Univ – Sci.*
- Masuura H. (2001).** Saponins in Garlic as Modifiers of the Risk of Cardiovascular Disease. *Journal of Nutrition.* P : 1000-1005.
- Medjeldi Merzougui S. (2012).** Peroxydase d'origine végétale : Purification, caractérisation biochimique, immobilisation et application dans la détermination des peroxydes au niveau des aliments conservés. Thèse de Doctorat. Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.
- Merghem R. (2009).** *Eléments de biochimie végétale* (16). Ed, Bahaeddine. Algérie.
- Mikaili P. Maadirad S. Moloudizargari M. Aghajanshakeri S. et Sarahroodi S. (2013).** Therapeutic use and pharmacological properties of garlic, shallot, their biologically active compounds. *Iranien journal of basic medical sciences.* Vol (16). P :1031-1048.

-N-

- Nacoulma A.P. (2012).** Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique.
- Nurwantoro, Bintoro V.P. Legowo A.M. Purnomoadi A. et Setiani B.E. (2015).** Garlic Antioxidant (*Allium sativum* L.) to Prevent Meat Rancidity. *Procedia Food Science.* Vol(3). P : 137 – 141.

-P-

- Padua L.S. Bunyapraphatsara N. & Lemmens R.H.M.J. (1992).** Plant Resources of South-East Asia.

-R-

- Rabiou A. Yacoubou B. Toudou A. Mahamane S. Et Jean-Pierre B. (2015).** Biologie, diversité et outils pour l'analyse de la diversité génétique de l'oignon, *Allium cepa* L. (synthèse bibliographique).
- Raven H. Evert R.F. et Eichhorn S.E. (2000).** *Biologie végétale* (6^e éd). (B.jules., et M. Charles, Trad.). Paris.
- Renneberg R.** Biotechnology pour des débutants. Elsevier. (2008). P : 92-138.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux : par Pascal RibéreauGayon. Dunod.

-S-

Saleh N.E. Michael F.R. Toutou M.M. (2015). Evaluation of garlic and union Powder as phyto-additives in the Diet of sea Bass (*Dicentrarcus labrax*). Egyptian Journal of Aquatic Research. Vol(41). P : 211–217.

Savithramma N. Linga Rao M. Suhrulatha D. (2011). Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Journal of Scientific Research. Vol(8). P : 580-581.

Sendl A. Schliack M. Löser R. Stanislaus F. Wagner H. (1992). Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and Wild garlic. Artherosclerosis. P :79-85.

Seyoum, A. Asres, K. El-Fiky F.K. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*.

Shastri V. Industrial Biotechnology. Maison d'édition de Gyan. (2006). P : 1-38.

ANNEXE

Annexe I : Les réactifs utilisés pour le criblage phytochimique**Solution de FeCl₃ (1%)**

Chlorure de fer (III)... 1g
Eau distillée 100ml

Réactif Dragendrof*Solution A*

Nitrate de bismuth 1.7g
Acide tartrique concentré.....20g
Eau distillée 100ml

Solution B

Iodure de potassium 10g
Eau distillée 100ml

Le mélange est ensuite additionné de 10g d'acide tartrique et son volume est ramené à 100ml avec l'eau distillée.

Réactif de Mayer

Chlorure de mercure 1.36g
Iodure de potassium5g
Eau distillée30ml

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter :

Eau distillée 100 ml

Dilution le réactif Folin-ciocalteu

Folin-ciocalteu concentré 1ml
Eau distillée 9ml

Solution de carbonate du sodium (7.5%)

Carbonate du sodium 7.5g
Eau distillée 100ml

Solution de chlorure d'aluminium (2%)

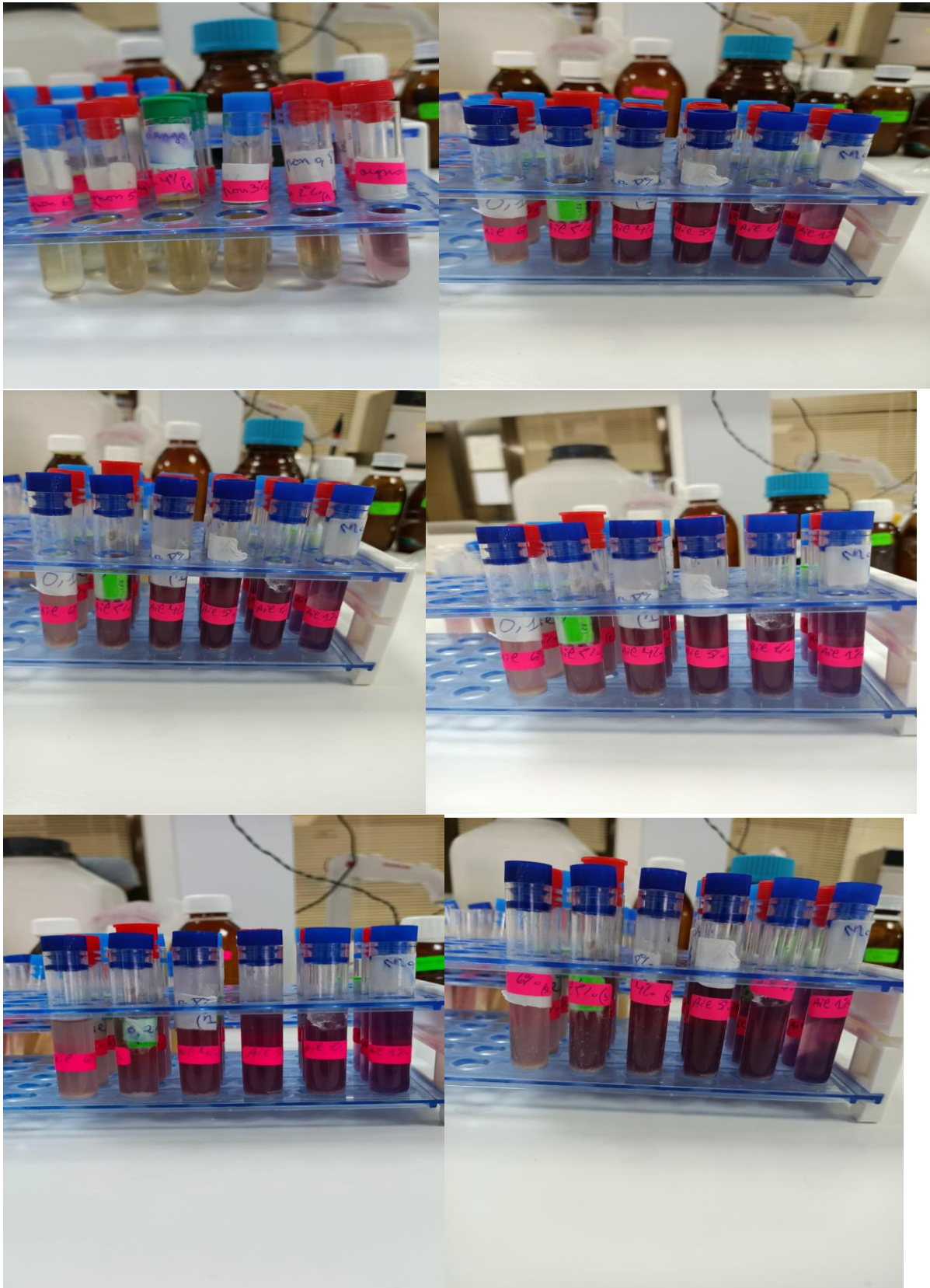
Chlorure d'aluminium..... 2g
Ethanol100ml

Solution d'acétate de sodium (50g/L)

Acétate de sodium 25g

ANNEXE II

Dosage de polyphénols et flavonoïde totaux



Activité antioxydant DPPH, ABTS+ et FRAP

