



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présentée par

**BelKrarroubi asma**

&

**Boussaid Samiya**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Spécialité: VALORISATION DE SUBSTANCE NATURELLE**

**VÉGÉTALE**

**THÈME**

**Etude phytochimique et activité biologique des  
parties aériennes (feuilles, fleurs et brindilles) de  
*Thymelaea hirsuta*.**

DEVANT LES JURYS

Président	M Ghelamallah Amine	M.C.B U. Mostaganem
Encadreur	M Bouzouina Mohamed	M.C.A U. Mostaganem
Examineur	M Debba Mohamed El-Bachir	M.A.A U. Mostaganem

*Année universitaire : 2016/2017*

# *Remerciements*

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant,  
pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons d'abord notre profonds remerciements et notre vive  
connaissance à M **Bouzouina Mohammed**, pour avoir encadré et dirigé ce  
travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil et la  
confiance qui nous avons été accordée nous ont permis de réaliser ce travail.

Nous adressons notre sincère remerciement à M **Dabba mohamed El- Bachir**  
et M **Ghelamallah Amine** qui ont fait l honneur d'être dans les jurys de notre  
soutenance.

Nous remercions tout le personnel de laboratoires pédagogiques M Redouane et  
M<sup>elle</sup> Rachida et toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou  
indirectement, à la réalisation de ce travail.

Et tous la promotion de valorisation des substances naturelles végétales

2016-2017



*Je e dédie ce travail*



*A mes très chers parents*

*A mes sœurs et mon frère*

*A toutes mes amies*

*A toute ma famille, proche ou éloignée.*

*ASMA*

*Je e dédie ce travail*



*A mes très chers parents*

*A ma sœur et mon frère*

*A toutes mes amies*

*A toute ma famille, proche ou éloignée.*

*Samira*

## Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, les fractions des extraits éthanoliques des feuilles, fleurs et brindilles de la plante *Thymelaea hirsuta* L. ont été testées pour estimer leurs contenus en composés phénoliques et évaluer leurs activités antioxydantes. Les composés phénoliques et l'activité antioxydante (DPPH et ABTS) des fractions préparées avec des solvants à polarités croissantes ; Chloroforme, Acétate d'éthyle et n-Butanol, ont été dosés photométriquement. Les résultats montrent une richesse de la fraction n-Butanol des fleurs en CPT ( $324,8 \pm 6,95$  mg EAG/g. Lyo.). Alors que les flavonoïdes et les flavonols sont plus abondants dans celle d'acétate d'éthyle des feuilles ;  $803 \pm 4,78$  et  $91,125 \pm 0,73$  mg ER/g. Lyo., respectivement. L'évaluation du pouvoir antioxydant testée par les deux méthodes a révélé, *in vitro*, des capacités puissantes. La fraction d'acétate d'éthyle des feuilles semble être plus antioxydante avec 96,24% d'inhibition du radical ABTS, à 2mg/ml de lyophilisat.

**Mots clés :** *Thymelaea hirsuta* – Composés phénoliques – activités antioxydantes – Photométrie - Solvants

**Abstract**

In the context of enhancing the value of natural resources, Fractions of ethanol extracts from leaves, flowers and twigs of the plant *Thymelaea hirsuta* L, Were tested to estimate their contents of phenolic compounds and evaluate their antioxidant activities. Phenolic compounds and antioxidant activity (DPPH and ABTS) fractions prepared with solvents with increasing polarities; Chloroform, Ethyl Acetate, and n-Butanol, were photometrically assayed. The results show a richness of the n-butanol fraction of the CPT flowers ( $324.8 \pm 6.95$  mg EAG / g Lyo). While flavonoids and flavonols are more abundant in that of ethyl acetate of the leaves;  $803 \pm 4.78$  and  $91.125 \pm 0.73$  mg ER / g. Lyo., Respectively. The evaluation of the antioxidant power tested by both methods revealed, in vitro, potent capacities. The ethyl acetate fraction of the leaves appears to be more antioxidant with 96.24% inhibition of the ABTS radical, at 2 mg / ml lyophilisate.

**Key words:** *Thymelaea hirsuta* - Phenolic compounds - antioxidant activities - Photometry – Solvents.

**Introduction**

**Partie bibliographique**

**Chapitre I**

**Les plantes médicinales**

**I. Les plantes médicinales**

I.1. Notion de la plante médicinale .....	4
I.1. Monographie d'une plante médicinale.....	4
I.3. L'utilisation des plantes médicinales .....	5
I.4. Des traitements à base de plantes .....	5
<b>II. La phytothérapie</b>	
II.1. Définition .....	6
II.2. Un usage millénaire de la phytothérapie.....	6
II.3. L'efficacité de la phytothérapie .....	7
II.4. Les risques de la phytothérapie.....	7

**Chapitre II**

**Les composées phénoliques**

II.1. Les principes actifs des plantes médicinales et condimentaires .....	8
II.2. Les composants actifs de plantes médicinales.....	9
II.3. Les composés phénoliques.....	10
II.3.1. Les phénols.....	11
II.3.2. Tanins.....	11
II.3.3 Les coumarines.....	12
II.3.4 Flavonoïdes.....	12
II.3.4. Saponines .....	14
II.3.5Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques .....	15

## Chapitre III

### *Thymelaea hirsuta*

III.1. Généralités .....	16
III.2. Description botanique de la famille Thymelaeaceae .....	16
III.3. Clé des genres <i>Tymelaea</i> .....	16
III.4. Quelques espèces du genre <i>Tymelaea</i> .....	16
III.4.1. <i>Thymelaea hirsuta</i> .....	16
III.4.2. <i>Thymelaea passerina</i> .....	18
III.4.3. <i>Thymelaea microphylla</i> .....	18

## Chapitre IV

### Activité antioxydante

IV.1. Antioxydants .....	20
IV.2. Les radicaux libres et le stress oxydant .....	20
IV.2.1. Définition d'un radical libre .....	20
IV.2.2. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO).....	21
IV.2.2.1. Les différents types d'ERO.....	21
IV.3. Stress oxydatif .....	22
IV.5. Mécanismes d'action des antioxydants .....	23

## Partie expérimentale

### Chapitre V

#### Matériels et méthodes

I. Matériels .....	24
II. Analyse phytochimique	
II.1 .Analyse qualitative .....	28
II.2. Analyse quantitative .....	28

<b>III. Tests antioxydants</b>	
<b>III.1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....</b>	<b>29</b>
<b>III.2. Test du piégeage des radicaux ABTS .....</b>	<b>29</b>
<b>IV. Analyse statistique .....</b>	<b>30</b>

## **Chapitre VI**

### **Résultat et discussion**

<b>Résultats et discussion .....</b>	<b>31</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>53</b>
<b>Références bibliographique</b>	



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Certains composants actifs présents dans les plantes médicinales.....	9
<b>Tableau 2 :</b> les différentes classes des composés phénoliques.....	10
<b>Tableau 3 :</b> présente quelques classes distinctes des flavonoïdes.....	14
<b>Tableau 4 :</b> Quelques données chimiques sur les espèces du <i>Thymelea caea</i> .....	19
<b>Tableau 5.</b> Principaux radicaux libres et leur structure chimique.....	21
<b>Tableau 6:</b> Rendement (%) des fractions (Chl – AE – n-But) issues des feuilles, fleurs et brindilles de <i>T. hirsuta</i> .....	31
<b>Tableau 7 :</b> Aspects physiques et couleurs des fractions (Chl – AE – n-But) issues des feuilles, fleurs et brindilles de <i>T.hirsuta</i> .....	32
<b>Tableau 8.</b> Contenu des phénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux des fractions (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol), dans les différents organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	44
<b>Tableau 9:</b> Les résultats de taux d'inhibition de DPPH en % par les extraits de <i>T.hirsuta</i> .....	46
<b>Tableau 10:</b> Les résultats de taux d'inhibition d'ABTS en % par les extraits de <i>T. hirsuta</i> .....	49
<b>Tableau 11:</b> Corrélations entre les activités antioxydantes des feuilles de <i>T. hirsuta</i> .....	51
<b>Tableau 12:</b> Corrélations entre les activités antioxydantes des fleurs de <i>T. hirsuta</i> .....	51
<b>Tableau 13:</b> Corrélations entre les activités antioxydantes des brindilles de <i>T.hirsuta</i> .....	51
<b>Tableau 14:</b> corrélation entre les activités antioxydantes et les concentrations des extraits de <i>T.hirsuta</i> .....	52

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : structure chimique de la phénol.....	11
<b>Figure 2</b> : Structure chimique des tanins.....	12
<b>Figure 3</b> : structure chimique de la coumarine.....	12
<b>Figure 4</b> : structure chimique d'un flavonoïde.....	13
<b>Figure 5</b> : Structure chimique d'une saponine.....	15
<b>Figure 6</b> : <i>Thymelaea hirsuta</i> (Fanny Veinante).....	16
<b>Figure 7</b> : <i>Thymelaea passrina</i> .....	18
<b>Figure 8</b> : protocole d'extraction.....	27
<b>Figure 9</b> : Rendements des extraits en % MS.....	31
<b>Figure 10</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	33
<b>Figure 11</b> : Teneur des phénoliques totaux en mg EAG/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	34
<b>Figure 12</b> : Teneur des composés phénoliques totaux en mg EAG/g. Lyo, des fractions (Chloroforme (Chl), Acétate d'éthyle (AE), n-Butanol (n-But)) de <i>T.hirsuta</i> .....	35
<b>Figure 13</b> : Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	36
<b>Figure 14</b> : courbe d'étalonnage de la rutine.....	37
<b>Figure 15</b> : Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	38
<b>Figure 16</b> : Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) de <i>T.hirsuta</i> .....	39
<b>Figure 17</b> : Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	40
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage de la rutine.....	41
<b>Figure 19</b> : Teneur des flavonols totaux en mg ER/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	42
<b>Figure 20</b> : Teneur des flavonols totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) de <i>T.hirsuta</i> .....	42

<b>Figure 21:</b> Teneur des flavonols totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de <i>T.hirsuta</i> .....	43
<b>Figure 22:</b> Évolution de taux d'inhibition de DPPH par trolox.....	45
<b>Figure 23:</b> Courbe d'étalonnage de trolox.....	48

## *Liste des abréviations*

**°C** : degré Celsius.

**EAG** : équivalent acide gallique.

**EC** : équivalent catéchine

**ER** : équivalent rutine

**FAE** : Fraction Acétate d'Ethyle

**FCR** : Réactif de Folin Ciocalteu

**FQ** : Fraction Aqueuse

**g** : gramme.

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

**L** : litre.

**Lyo** : lyophilisat.

**mg** : Milligramme

**ml** : millilitre

**N°** : numéro.

**µg** : Microgramme

**µl** : microlitre.

**%** : Pourcentage

**ROS** : Espèces réactives oxygénées

## Introduction

Depuis la nuit du temps, l'homme a connue les plantes ; il les utilisées pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et même pour se soigner. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques, car elles contiennent des produits chimiques agissant directement sur l'organisme.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Ma et *al.*, 1997). De nos jours, la recherche scientifique nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnu et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (Bourgaud et *al.*, 2001 ; Kar, 2007).

L'isolement des principes actifs des plantes commença au début du XIXème siècle. En 1785, une étude fut publiée sur l'utilisation de la digitaline pour son action diurétique et son influence sur certaines faiblesses cardiaques. En 1809, des essais cliniques ont commencé avec des extraits de feuilles. Quelques années plus tard, le principe actif (la digitaline) fut isolé. Cette plante est aujourd'hui à la base de nombreuses spécialités pharmaceutiques destinées à soigner certaines insuffisances cardiaques.

Le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments. Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie.

Notre plante *thymeleae hirsuta* est connue pour sa richesse en produits du métabolisme secondaire et particulièrement en polyphénols. Dans notre étude, on se propose de :

- Faire un screening phytochimique des polyphénols, flavonoïdes et flavonols existant dans les différentes parties de la plante (fleurs, feuilles et brindilles).
- Etudier l'activité antioxydant, par deux méthodes, test du piégeage des radicaux ABTS et le piégeage du radical libre DPPH pour les différents extraits de la plantes.

## I. Les plantes médicinales

### I.1. Notion de plante médicinale

Une plante dite « médicinale » est une plante qui a des propriétés thérapeutiques. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006). L'utilisation des plantes est très ancienne, et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme. (Catier et *al.*, 2004). Une plante médicinale est une plante possédant un ou plusieurs principes actifs à caractères préventifs ou curatifs de certaines maladies ou problèmes de santé divers. Certains aliments peuvent aussi être considérés comme médicinaux (Detry, 2013).

Les plantes médicinales appelées « les simples », sont la plus ancienne forme de médecine ; connues depuis la nuit des temps et utilisées à des fins multiples, leurs origines et leurs usages sont étendus.

Actuellement, grâce aux progrès scientifiques considérables enregistrés depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle (essor de la chimie, technique d'analyse et d'extraction etc.), la thérapeutique a beaucoup évalué pour arriver à sa forme actuelle qui utilise certaines plantes comme matière première, en particulier pour en extraire des principes actifs ; plus de 30% contiennent en effet des principes actifs d'origine végétale.

L'empirisme n'est plus de mise ; on a pu isoler, identifier et analyser, pour tous les végétaux utilisés en thérapeutique, les substances actives qu'ils contiennent, et étudier les propriétés qui expliquent leurs emplois. Par ailleurs nombreuses sont les plantes utilisées de longue date qui ont permis de découvrir des substances actives, que l'on a pu par la suite fabriquer par synthèse. (Catier et *al.*, 2004).

### I.2. Monographie d'une plante médicinale

On entend par monographie la description complète de la plante, permettant :

- De l'identification en éliminant tout risque d'erreur, de confusions ou de falsifications possibles ;
- De connaître sa composition ;
- De repérer les propriétés qui expliquent les emplois, la toxicité, les effets indésirables, les contre-indications... (Catier et *al.*, 2004).

### I.3. Utilisation des plantes médicinales

L'utilisation des plantes médicinales est encore aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Cependant, vers la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, elle a connu un rapide déclin en Occident avec l'avènement de la médecine scientifique et l'apparition des médicaments modernes (aspirine, antibiotiques, cortisone, etc.). Toutefois, depuis les années 1970, entre autres à cause des effets indésirables des médicaments de synthèse, les gens se tournent de nouveau vers les plantes médicinales. Leur popularité grandissante a amené les scientifiques à entreprendre de nouvelles recherches (Blanchet, 2010).

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) connaît actuellement un regain d'intérêt : Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (Mark, 2001). Par ailleurs, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de celles utilisées en médecine traditionnelle (Diallo, 2005).

Elle doit être donc envisagée sous deux aspects :

- L'utilisation de la plante comme médicament ; c'est ce que l'on entend aujourd'hui sous le terme de phytothérapie et dans ce cas il ne peut s'agir que de plants peu ou pas toxique ;
- L'extraction des substances actives contenues dans les végétaux qui entrent alors dans la formulation de préparation et de spécialités ; dans ce cas on manipule souvent des principes actifs particulièrement toxiques dont l'emploi nécessite prescription, surveillance médicale et toujours vigilance au moment de leur délivrance (Catier et *al.*, 2004).

### I.4. Les traitements à base de plantes

Les stratégies adoptées par les phytothérapeutes pour prévenir les maladies ou pour guérir les malades sont différentes, selon les nombreuses traditions en usage sur la planète, les effets sur le corps des traitements à base de plantes sont eux identiques. Plusieurs milliers de plantes sont utilisées de par le monde. Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (Iserin, 2001).

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable : c'est là l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement. Contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme (Blanchet, 2010).

## II. La phytothérapie

La phytothérapie est l'art de se soigner avec les produits issus de notre belle nature. Sur notre planète sont recensées près de 95000 plantes reconnues pour leurs vertus médicinales. Aussi diverses et nombreuses soient elles, les « simples » telles qu'elle se font appeler, offrent un important panel de vertus pour soigner les maux et les petits bobos. Les bienfaits des plantes et de leurs extraits ont forgé leur réputation depuis des millénaires (Cedric et *al.*, 2014).

### II.1. Définition

Le mot phytothérapie provient de 2 mots grecs : phyton et therapeia qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » (Cédric et *al.*, 2014). 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, 2001).

La phytothérapie est une méthode thérapeutique qui utilise les plantes médicinales pour prévenir et/ou soigner la maladie. Les soins par les plantes trouvent leur place en parallèle ou en accompagnement d'autres pratiques qu'elles soient issues d'une tradition ancienne ou de l'allopathie moderne (Cédric et *al.*, 2014). Il s'agit d'une technique de soins qui utilise les plantes pour venir à bout des causes et symptômes de diverses maladies. C'est l'une des plus anciennes thérapeutiques (Gayet, 2013)

### II.2. Usage millénaire de la phytothérapie

Depuis la nuit des temps, les humains et les animaux se servent du monde végétal pour se soigner. Dès l'Antiquité, les formidables propriétés curatives de certaines plantes étaient déjà notées dans les ouvrages tels ceux de Pline l'Ancien, Hippocrate, Alexandre.

Le recours aux plantes est longtemps resté le seul traitement possible des troubles bénins avant l'avènement de la recherche scientifique. N'oublions pas qu'il le demeure pour certaines populations de contrées reculées comme les Aborigènes d'Australie ou de pays moins fortunés que le nôtre qui n'ont pas accès à ces progrès médicaux (Gayet, 2013).

Au cours des dernières années, quelques revues systématiques et études cliniques aléatoires sur la phytothérapie ont été publiées. Les principaux problèmes de santé étudiés ont été l'arthrite, le cancer, la maladie d'Alzheimer, les symptômes de ménopause et la douleur. Les résultats montrent que la phytothérapie, seule ou en combinaison avec la médecine classique, semble prometteuse dans le traitement de certaines maladies. Par contre, la qualité déficiente de plusieurs de ces études limite les conclusions au sujet de l'efficacité de la phytothérapie (Blanchet, 2010).

### II.3. Efficacité de la phytothérapie

De nombreuses études relatent les effets bénéfiques des plantes, parfois même supérieurs aux médicaments, et ce dans les plus grandes revues médicales... L'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies (Gayet, 2013).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIII<sup>e</sup> siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. Cette Encyclopédie ne fait pas exception. Elle détaille précisément les principaux éléments actifs contenus dans les plantes médicinales et explique la nature de leurs actions. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels (Iserin, 2001).

Pour autant, la phytothérapie ne traite pas 100 % des maladies et ne se substitue pas aux traitements médicaux et chirurgicaux modernes pour des pathologies lourdes (cancer, maladie génétique, maladie auto-immune, vitiligo...). Elle peut néanmoins venir en soutien. Le progrès médical et les avancées scientifiques, dont des pays comme la France bénéficient, sont une chance que tout malade doit mettre à profit (Gayet, 2013).

### II.4. Les risques de la phytothérapie

L'avantage essentiel de la phytothérapie est d'éviter les effets secondaires grâce aux faibles concentrations et parce que les éléments n'y sont ni dissocié ni épurés. Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu d'effet indésirable (Cédric et al., 2014).

Mais comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités (Iserin, 2001). La phytothérapie peut perdre son efficacité lors d'une ;

- Erreur d'identification à l'origine d'une substitution par une plante toxique.
- Modalités de fabrication de la spécialité pharmaceutique, avec la possible extraction de substances toxiques ou la présence de certains excipients pouvant expliquer une toxicité inattendue.
- Interaction avec d'autres plantes ou traitements en particuliers allopathique.
- Altération du produit lors du conditionnement (Cédric et al., 2014).

## II. Les composés phénoliques

### II.1. Les principes actifs des plantes médicinales et condimentaires

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité.

Les principes actifs des plantes médicinales se forment comme ceux d'autres plantes. Certains sont essentiels pour les plantes mêmes. D'autres sont plutôt du remplissage, mais ont une grande valeur pour l'homme.

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés Phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003 ; Haven *et al.*, 2000).

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd *et al.*, 2002).

En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminés ce groupe, il existe plus de 200.000 composés connus qui ont des effets antinutritionnels et toxiques chez les mammifères. Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure- dépendant (Makkar et Becker, 2007).

## II.2. Les composants actifs de plantes médicinales

**Tableau 1** : Certains composants actifs présents dans les plantes médicinales (Chevallier, 2007)

<b>Les composants actifs</b>		
<p>Vous trouverez ci dessous les principaux types de composants actifs dans les plantes médicinales. Ces plantes contiennent des centaines de composants dont seule une faible proportion a une action thérapeutique directe. En règle générale, si vous connaissez ces composants actifs, vous pouvez en induire les effets médicaux.</p>		
<b>Composants</b>	<b>Actions médicales</b>	<b>Exemples</b>
<b>Phénols.</b>	- Ont souvent une action anti-inflammatoire, antiseptique et des propriétés antioxydants.	- Acide salicylique, présent dans l'écorce de saule blanc ( <i>Salix alba</i> )
<b>Huiles volatiles.</b>	- Mélanges complexes de composés à large champs d'action, dont des propriétés stimulante, sédative, anti-inflammatoire et insecticides.	- Huile essentielle d'arbre à thé ( <i>Aelaleuca alternifolia</i> )
<b>Flavonoïdes.</b>	- Pigments de couleur souvent jaune ou blanche ; beaucoup sont très antioxydants et aident la circulation, certains sont œstrogènes.	- Rutine, présente dans l'écorce et la peau blanche du citron ( <i>Citrus limon</i> ).
<b>Tanins.</b>	- Ont une action astringente ; propriétés souvent puissamment anti oxydantes et anti-inflammatoires.	- Catéchine, présente dans l'hamamélis ( <i>Hamamelis virginiana</i> ).
<b>Coumarine.</b>	- A souvent des propriétés anticoagulantes ou antispasmodiques.	- Esculine, présente dans le marronnier d'Inde ( <i>Aesculus hippocastannum</i> ).
<b>Saponines.</b>	- Composants clés de structure similaire à celle des hormones humaines, a souvent une action hormonale ou anti-inflammatoire.	- Dioscine, présente dans l'igname sauvage ( <i>Dioscorea villosa</i> )
<b>Anthraquinones</b>	- Composants agissant comme laxatif au dosage approprié.	- Sennosides , présents dans le séné ( <i>Cassia spp.</i> )
<b>Glycosides cardiaques.</b>	- Composants contenant du cyanure ; sédatifs et relaxants à faible dose.	- Sambunigrine, présente dans les feuilles de sureau noir ( <i>Sambucus nigra</i> ).
<b>Polysaccharides.</b>	- Grosses molécules caractérisées par leur effet adoucissant/calmant sur les membranes muqueuses.	- Mucilage, présent dans l'orme rouge ( <i>Ulmus fulva</i> ).
<b>Principes amers.</b>	- Composants au goût très amer qui stimulent l'appétit, les fonctions digestives et ralentissent le rythme cardiaque.	- Amarogentine , présente dans la gentiane ( <i>Gentiana lutea</i> ).
<b>Alcaloïdes.</b>	- Groupe de composants divers, dont certains ont un effet médical puissant, comme la morphine.	- Alcaloïdes d'isoquinoline, présents dans le pavot de Californie ( <i>Eschscholzia californica</i> ).
	<p>➤ Les plantes médicinales contiennent aussi des nutriments, des vitamines et des minéraux.</p>	

### II.3. Les composés phénoliques

Sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH qui est un monohydroxybenzène. (Walton et Brown., 1999). Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006).

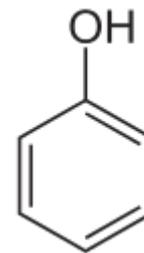
La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins) (Walton et Brown, 1999).

**Tableau 2:** les différentes classes des composés phénoliques (Daayf et Lattanzio, 2008).

<i>Squelette carbonée</i>	<i>Classes de composés phénoliques</i>
C <sub>6</sub>	Phénols simples et benzoquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénoliques
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthonnes
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes et anthraquinones
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>2</sub>	Tannins hydrolysables
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes et néolignanes
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines
(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Catéchols
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins condensés

### II.3.1. Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. La gaulthène (*Caulthena pmcumbens*) et le saule blanc (*Salix alba*) contiennent des acides glucosides phénoliques qui donnent, par distillation, des dérivés de salicylique et sahcylate de méthyle (Iserin, 2001).



**Figure 1 :** structure chimique du phénol

### II.3.2. Tanins

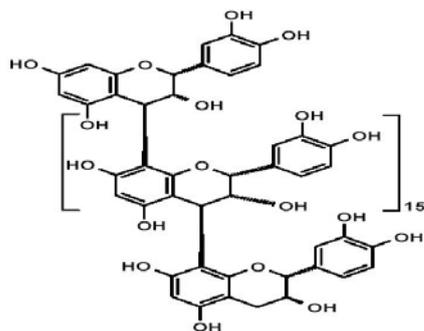
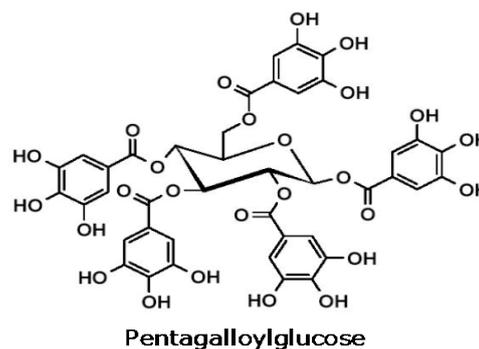
Les tanins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (Bruneton, 1999). Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène de la peau. D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da (Brunet, 2008).

Le nom de ce groupe de substances relativement complexes provient du fait qu'elles entrent en combinaison non soluble avec les protéines animales en cuir. Les tanins réagissent au contact de la peau et des muqueuses et les corroient (Hensel, 2007).

Les tanins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999; Hagerman, 2002). Ils sont principalement utilisés dans le traitement des blessures internes et externes (Hensel, 2007).

**A. tanins hydrolysables :** qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acides phénols. Le sucre est très généralement le D- glucose et l'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

**B. tanins condensés :** différents des tanins hydrolysables, car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 1999).

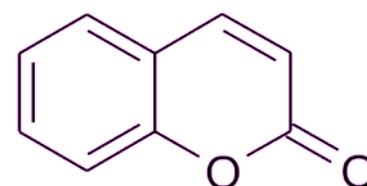
**Tanins non hydrolysables****Tanins hydrolysables****Figure 2 :** Structure chimique des tanins.

### II.3.3. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford et al., 2001).

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998 ; Deina et al, 2003 ; Booth et al, 2004).

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses (Iserin, 2001). Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003).

**Figure 3:** structure chimique de la coumarine.

### II.3.4. Flavonoïdes

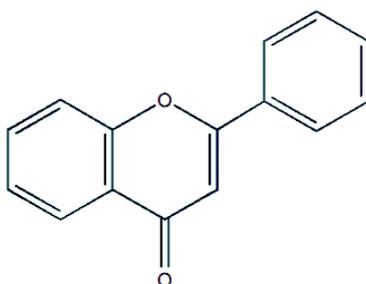
Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments

responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Erlund, 2004), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Delporte et *al.*, 1999).

Chimiquement il s'agit de substances de combinaisons aromatiques en anneau, liées aux molécules de glucose et à d'autres molécules....fonction de leur composition .ils ont des effets médicaux différents, allant du diurétique (verge d'or) au vasoconstricteur (marron d'Inde) (Hensel, 2007).



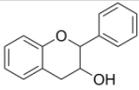
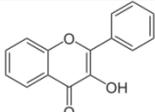
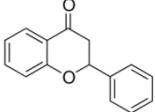
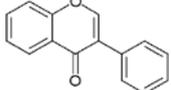
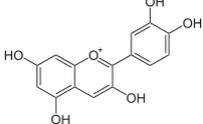
**Figure 4:** Structure chimique d'un flavonoïde

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie (Iserin, 2001).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire, la présence de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yao et *al.*, 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes :

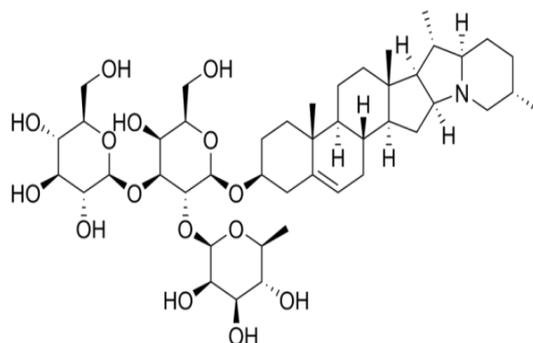
**Tableau 3** : Quelques classes distinctes de flavonoïdes (Bellebcir, 2008).

Classes	Formules	Sources	Propriétés
flavanols		Raisins, Thé, Cacao	-Antioxydants naturels -anticancéreuses
flavonols		Oignon, Pomme, Brocoli, Fruits rouges	- antihistaminique, anti-inflammatoire et antioxydante. - antihistaminique, anti-inflammatoire et antioxydante. - Isorhamnétine : propriétés antioxydante.
Flavanones		Agrumes : orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère	- neutralisation des radicaux libres. - amélioration de l'absorption de la vitamine C. - la prévention des cancers de la peau.
Isoflavones		Soja	- phytoestrogéniques. - Source de phytoestrogènes.
Anthocyanes		Myrtille, Mûre, Raisin noir, Aubergine, Prune...	- la lutte contre le vieillissement cellulaire en améliorant l'élasticité et la densité de la peau. - Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes. - antiseptiques urinaires.

### II.3.4. Saponines

Ce sont des glucosides qui, mélangés à l'eau, forment une mousse durable et dissolvent l'hémoglobine des globules rouges. Les saponines augmentent, en outre, la capacité d'absorption des autres principes actifs végétaux. En cas de prise excessive, on peut vite provoquer des irritations de la muqueuse intestinale (Fritzsche, 1993).

Le rhizome de la saponaire a ainsi longtemps servi de lessive. Les saponines sont toxiques à forte concentration, car elle attaque la fine membrane de chaque cellule. Les plantes sapinières sont absorbées pour favoriser l'expectoration des muqueuses ou le lavage des reins (Hensel, 2007).



**Figure 5** : Structure chimique d'une saponine.

### II.3.5. Propriétés pharmacologiques des composés phénoliques

Tous les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes.... (Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).

Parmi les principaux composés phénoliques, les flavonoïdes qui sont des composés qui possèdent de fortes propriétés anti-oxydantes (Rice-Evans, 1995). Ils sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (Dixon et *al.*, 1983), et par conséquent agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (Cowan, 1999 ; Recio et *al.*, 1989).

Les acides phénols sont anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, hépato -protecteurs et immunostimulants (Bruneton, 1999).

Les coumarines connues pour ses propriétés anti-oedémateuses, ont fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés car elle est rapidement métabolisée au niveau du foie en 7-hydroxycoumarine (Fujioka et *al.*, 1999). Il n'est pas exclu que les propriétés anti- inflammatoires et analgésiques attribués au frêne soient dues aux coumarines (Chen et *al.*, 1995 ; Garcia-Agazet *al.*, 2000). L'action commune des coumarines de différente origine est celle contre les différents types de troubles gastriques (Resch et *al.*, 1998), antivirale (Yoshikawa et *al.*, 1994) et antimicrobienne (Kayser et Kolodziej, 1997).

Les tanins favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole, 2009).

### III. *Thymelaea hirsuta*

#### III.1. Généralités

La famille des *thymelaeaceae* comprend environ 500 espèces d'arbres et arbustes, généralement toxiques. Elle est répartie dans toutes les régions tempérées et tropicales de la planète. La famille est reconnue par ses fleurs tubulaires essentiellement sépalaires de ces membres (Van der Bank et al., 2002).

Dans les conditions Méditerranéennes, elles sont représentées par les genres *Thymelaea* et *Daphne*. *Thymelaea* est un genre comportant environ 30 espèces d'arbustes et d'herbes à feuilles persistantes, dont *Thymelaea hirsuta* qui constitue l'espèce la plus typique du genre (Ressigle et al., 1987).

#### III.2. Description botanique de la famille Thymelaeaceae

Arbustes ou plantes herbacées à feuilles alternes ou opposées, souvent coriaces et persistantes. Inflorescences très variables. Fleurs hermaphrodites dioïques ou polygames, 4-5 mères, à calice tubuleux. Etamines 8-10 insérées sur 2 rangs. Ovaire uniloculaire en général uniovulé. Fruit sec ou drupacé monosperme (Quezel et santa, 1993).

#### III.3. Clé des genres *Tymelaea*

Plantes annuelles ou sous-arbrisseaux à fleurs polygames ou dioïques. Périclype à 4-5 divisions en général persistant, verdâtre ou jaunâtre. Étamines 8-10 sur 2 rangs. Ovaire uniloculaire à 1 style. Fruit sec ou charnu, monosperme. Fruit sec. Fleurs petites, en général inodores, à tube  $\pm$  renflé-urcéolé (Quezel et santa, 1993).

#### III.4. Quelques espèces du genre *Tymelaea*

##### III.4.1. *Tymelaea hirsuta*

##### A. Caractéristiques du taxon

##### Ecologie :

Comportement saisonnier : Présence maximum d'octobre à mai,

##### Morphologie :

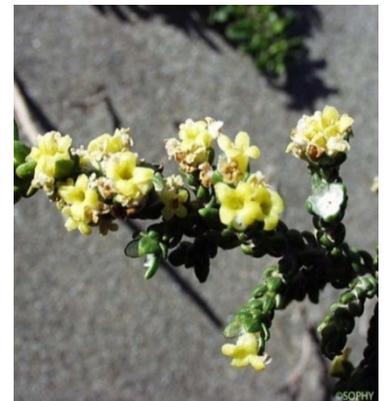
Feuille : Vert brillante,

Fleur : Glabre extérieurement, jaunâtre, et groupées en petits bouquets de 2 à 5 fleurs,

Tige : Duveteuse, jusqu'à 1 m de hauteur.

##### B. Les noms de la plante

Nom latin : *Thymelaea hirsuta*



**Figure 6:** *Tymelaea hirsuta* (Fanny Veinante).

Nom vernaculaire : Passerine hérissée, Thymélée hirsuta.

Nom anglais : Hairy *Thymelaea*.

Nom arabe : Mitnan, Matnan el akhdar, Matnan el bahloul.

### **C. Habitat**

C'est une espèce spontanée très répandue dans les régions arides et semi-arides. Elle se développe sur les terrains incultes rocaillieux.

### **D. Description botanique**

Plantes annuelles, sous-arbrisseaux à fleurs polygames ou dioïques.

Périclype à 4-5 divisions en général persistant, verdâtre ou jaunâtre. Etamines 8-10 sur 2 rangs. Ovaire uniloculaire à 1 style. Fruit sec ou charnu, monosperme.

Feuilles pubescentes en entier ou au moins sur une de leur face. Très petites densément imbriquées, coriaces ovoïdes aiguës, glabres en dessous, pubescentes-laineuses en dessus.

Fleurs 2-5 au sommet des rameaux à calice rapidement caduc, jaunâtre, polygame (Quezel et santa, 1993).

### **E. Systématique**

<b>Règne :</b>	Végétal
<b>Embranchement :</b>	Phanérogames
<b>Sous embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Eudicots
<b>Ordre :</b>	Malvales
<b>Famille :</b>	Thymelaeaceae
<b>Genre :</b>	<i>Thymelaea</i> .

### **F. Propriétés et usages thérapeutiques**

Suite à une étude ethnobotanique de Thymelaeaceae menée auprès des populations locales d'El-Mechria et Naâma. La plante *Thymelaea hirsuta* a été utilisée contre certaines infections microbiennes. D'autres espèces appartiennent à cette famille sont largement employées pour leurs propriétés diurétiques, hypotensives et anti-inflammatoires. (Djeridane et al., 2006).

*Thymelaea hirsuta* est utilisé comme purgatif pour les maladies de la peau ; une pâte est faite à partir des cendres mélangées avec l'eau et appliquées localement aux secteurs affectés du derme. (Polunin et Huxley, 1971 ; Said et al., 2002). En plus de la peau, l'espèce est utilisée dans le traitement de la toux et des problèmes respiratoires (Azaizeh et al., 2006).

Des études scientifiques au Maroc ont montrées que *T. hirsuta* à une double activité : hypoglycémique et antidiabétique. Ces résultats ont été obtenues à partir de multiples

administrations de l'extrait de la plante chez des sujets normoglycémique et des souris STZ diabétique (El Amrani et *al.*, 2009).

### **G. Toxicité de la plante**

La plante contient des diterpènes très toxiques. Un simple contact avec la peau ou les muqueuses peut provoquer une réaction inflammatoire intense. Ce sont de plus des agents potentiellement carcinogènes.

#### **III.4.2. *Thymelaea passerina***

##### **A. Caractéristiques du taxon**

###### **Synonymes**

*Thymelaea arvensis*, *Lygia passerina*

**Ecologie:** lieux secs et arides, surtout calcaires, dans une grande partie de la France ; Corse Europe méridionale et centrale ; Asie occidentale et boréale ; Afrique septentrionale.

**Floraison :** Juin-septembre.

##### **B. Description botanique**

Plante annuelle à tiges dressées de 5-50 cm, grêle, rameuse à la base, glabre ou ± pubescente. Feuilles linéaires, lancéolées, petites 3-10 X 1-4 mm, présentes tout au long de la tige, sessiles. Fleurs 1-3 à l'aisselle de feuilles pourvues de 2 bractées linéaires souvent plus longues que le fruit. Fruit glabre (Quezel et santa ; 1993).



**Figure 7:** *Thymelaea passerina*

#### **III.4.3. *Thymelaea microphylla***

##### **A. Les noms de la plante**

**Nom botanique :** *Thymelaea microphylla* Coss et Dur.

**Nom français :** Thymelée ou passerine à petites feuilles.

**Nom vernaculaire :** Methnane.

##### **B. Aire de répartition**

Il est rencontré dans les Hauts plateaux, l'Atlas Saharien et dans le Sahara septentrional (plante endémique du Nord de l'Afrique).

##### **C. Description botanique**

Sous-arbrisseaux ligneux à tiges très ramifiées. 5 Feuilles très petites (1-4 mm) ovoïdes, éparses et distantes sur les rameaux . Arbrisseaux dioïques à rameaux effilés coalescents. Fleurs glomérulées par 2-5 à l'aisselle des feuilles et bien plus longues qu'elles, jaunâtres à lobes très courts. Pâturages arides et désertiques (Quezel et santa, 1993).

### D. Propriétés thérapeutiques et emplois

En Tunisie, les feuilles sont utilisées en cataplasme dans le traitement des blessures et de diverses dermatoses : érysipèle, cancer de la peau, boutons et abcès.

Le décocté des feuilles est signalé comme purgatif, alors qu'il passe aussi pour être efficace dans le traitement de la stérilité et l'ictère, cette plante est signalée toxique (Boukef, 1986).

A Djelfa le décocté des feuilles est utilisé pour traiter l'alopecie, la gale et les mycoses. Par voie orale, le décocté des racines est préconisé pour soulager les douleurs abdominales et éliminer l'aérocologie (Benziane et Yousfi, 2001).

**Tableau 4** : Quelques données chimiques sur les espèces du thymelaecaeae (Dohou et al., 2003).

Espèce	Organes étudiés	Molécules extraites	Références
<i>Hirsuta</i>	feuilles	thymérol ((C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O) <sub>n</sub> )	Saleh et al., 1965
	feuilles	stigmastérol, β-sitostérol, alcool aliphatique C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O, lactone C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	Gharbo et al., 1970
	-	alcanes en C <sub>27</sub> à 31, alcanols en C <sub>22</sub> , 24, 26 et 28, β-sitostérol et campestérol	Rizk et al., 1974
	-	daphnorine, daphnorétine, daphnine, daphnéline, daphnéline-glucoside, ombelliférone, scopolétine et esculétine (coumarines)	Rizk et al., 1975
	feuilles	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar et al., 1977
	feuilles	tiliroside (3-p coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)	Ismail, 1978
	feuilles	lupéol, β-sitostérol, phytol, β-amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980a
	Feuilles et brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol	Rizk et al., 1984
	feuilles et brindilles	gnidicine, gniditrine, genkwadaphnine, 12-O-heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14 orthobenzoate et 12-O-butényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane)	Brooks et al., 1990
	racines	daphnorétine (éther de dicoumaryl)	Abou-Karamet al., 1998
feuilles	Tanins	El-Beheiry, 2000	
<i>Passerina</i>	parties aériennes	pentacosane, triacontanol, sitostérol, stigmastérol, β-amyrine, ombelliférone et scopolétine	George et Rishi, 1982
<i>Microphylla</i>	parties aériennes	acide oléanolique, β-sitostérol et 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sitostérol	Cheriti et Sekkoum, 1995

## IV. Activité antioxydante

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

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante («libre») en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité, donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Goudable et Favier, 1997).

### IV.1. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. L'organisme réagit de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

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).

### VI.2. Les radicaux libres et le stress oxydant

#### IV.2.1. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy  $\text{ROO}\bullet$ , radical

alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , radical hydroxyl  $OH^{\bullet}$ , monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$ , mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet  $^1O_2$ , peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , peroxyde d'azote  $ONOO^-$  (Favier, 2003).

**Tableau 5** : Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton, 2005)

Radicaux libres (nomenclatures)	Structures chimiques
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$
Radical hydroperoxyde	$HOO^{\bullet}$
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet}$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Peroxyde d'azote	$ONOO^{\bullet}$
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$

#### IV.2.2. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des dérivés de l'oxygène hautement réactifs et instables induisant un vieillissement des protéines, une peroxydation lipidique et un endommagement de l'ADN (Negre-Salvayre & Salvayre, 2005 ; Baudin, 2006).

##### IV.2.2.1. Les différents types d'ERO

###### □ Anion superoxyde : $O_2^{\bullet-}$

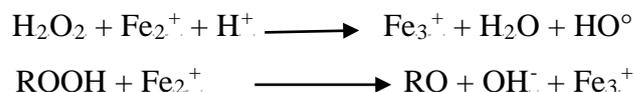
L'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) est un dérivé très réactif de l'oxygène, relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives (Bouhadja, 2011).

###### □ Radicaux libres hydroxyles : $OH^{\bullet}$

Le radical libre hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) est très réactif. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine d'une lésion de nécrose. C'est un dérivé de l'anion superoxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons une réaction à titre d'exemple :

➤ La réaction de Fenton : elle est basée sur la production des radicaux hydroxyles à partir de la décomposition du peroxyde d'hydrogène catalysée par des sels ferreux (Bouhadjra, 2011).

➤ Dans l'oxydation des lipides, la réaction de Fenton peut s'écrire de la manière suivante:



#### □ L'Oxygène singulet : $\text{O}_2^1$

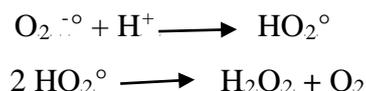
Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme active. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules (Bouhadjra, 2011). Il est formé à partir de l'anion superoxyde selon la réaction suivante :



#### □ Le radical peroxyde : $\text{H}_2\text{O}_2$

Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ERO) même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs (Pastre, 2005).

Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes :



### IV.2.3. Stress oxydatif

Des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (Christophe & Christophe, 2011). Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Papazian & Roch, 2008). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (Poirier, 2004).

#### 1. Conséquences du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (Hadj Salem, 2009), les lipides (peroxydation), les protéines (Jacob, 2007)...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies

cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) (Pincemail & Defraigne 2003) et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet et Alamigeon, 2010).

## 2. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydants sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydants (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal et *al.*, 2002).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

### IV.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

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. 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).

## I. Matériels et méthodes

### 1. Matériels

#### 1.1. Site d'échantillonnage

Le présent travail a été réalisé sur une plante dite *Thymelaea hirsuta*. Cette plante a été prélevée dans la période de sa floraison, en Avril 2017, dans une zone localisée dans la commune de « Djdiouia ». Cette dernière est distante de 35Km à l'est du Chef –lieu de la wilaya de Relizane (Algérie) et située à 83m d'altitude, 35°55'33''N d'attitude et 0°49'23''E de longitude.



**Planche 1** : A = vue général d'un arbuste de *Thymelaea hirsutra*, B = vue générale de la zone d'échantillonnage.

#### 1.2. Matériel végétal

##### 1.2.1. Echantillonnage

La partie aérienne de la plante étudiée a été prélevée le matin, d'une manière aléatoire, puis transportée dans des sacs en plastique noir.

##### 1.2.2. Séchage

Au laboratoire, les rameaux de la plante ont été étalés à l'air libre et à l'abri de la lumière. Cette étape est pour objet de conserver le maximum d'intégrité des molécules. Sa durée dépend de la teneur en eau dans le végétale ainsi que la température ambiante. Après quelque jour de séchage, les différents organes (feuilles, fleurs et brindilles) ont été séparés avec précaution. Ensuite, ils ont été mis à sécher quelques jours à l'étuve à une température de  $\leq 40^{\circ}$  C, (en pesant le poids chaque 24 heures) jusqu'à l'obtention d'un poids stable.

##### 1.2.3. Pulvérisation

La matière sèche à été, ensuite, finement broyées à l'aide d'un mortier en porcelaine afin d'augmenter la surface de contact entre la matière végétale et le solvant utilisé. Après broyage, le produit mis dans des boites couvertes d'aluminium a été fermé hermétiquement et conservé à l'obscurité.

### 1.3 Extraction des composés bioactifs

L'extraction est basée sur le degré de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants organiques.

#### a) Macération

Le matériel végétal finement broyé (100g) a été soumis à une extraction par macération dans le mélange éthanol/eau (70/30 : v/v). Celle-ci a été réalisée pendant trois jours successifs et à une température ambiante avec une filtration à l'aide d'un papier Whatman #1, avec renouvellement du solvant chaque 24 heures. Elle avait pour but une meilleure extraction des composés phénoliques.

#### b) Évaporation

Le solvant a été évaporé sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif (Rota Vapor, Büchi, Modèle RP 210) à une température de 40° C (éliminer le solvant et concentrer l'extrait). L'extrait éthanolique brut (EEB), ainsi obtenu, a été conservé à 4° C pour les travaux de fractionnement.

#### c) Fractionnement

L'extrait brut (EEB) a été repris avec 200ml d'eau distillée bouillante, laissé décanter pendant quelque heure, puis filtré sur papier-filtre Whatman #1.

La phase aqueuse limpide récupérée a été placée dans une ampoule à décanter de 1L afin de subir un lavage avec l'éther de pétrole (v/v) (opération répétée 2fois). L'importance de cette étape est de se débarrasser des lipides et de la chlorophylle. Après, la phase aqueuse restante a été mise, ensuite, dans une ampoule à décanter afin de subir des affrontements successifs par trois différents solvants organiques. Une extraction par des solvants de polarité croissante tels le chloroforme qui permet l'extraction des aglycones méthoxylés et peu hydroxylés, l'acétate d'éthyle pour extraire les aglycones poly hydroxylés, le n- butanol qui accède aux hétérosides polyglycosylés et aussi les hétérosides de type c-glycosyl (Ribereau-Gayon, 1968). La phase aqueuse finale contient surtout les flavonoïdes glycosylés plus polaires.

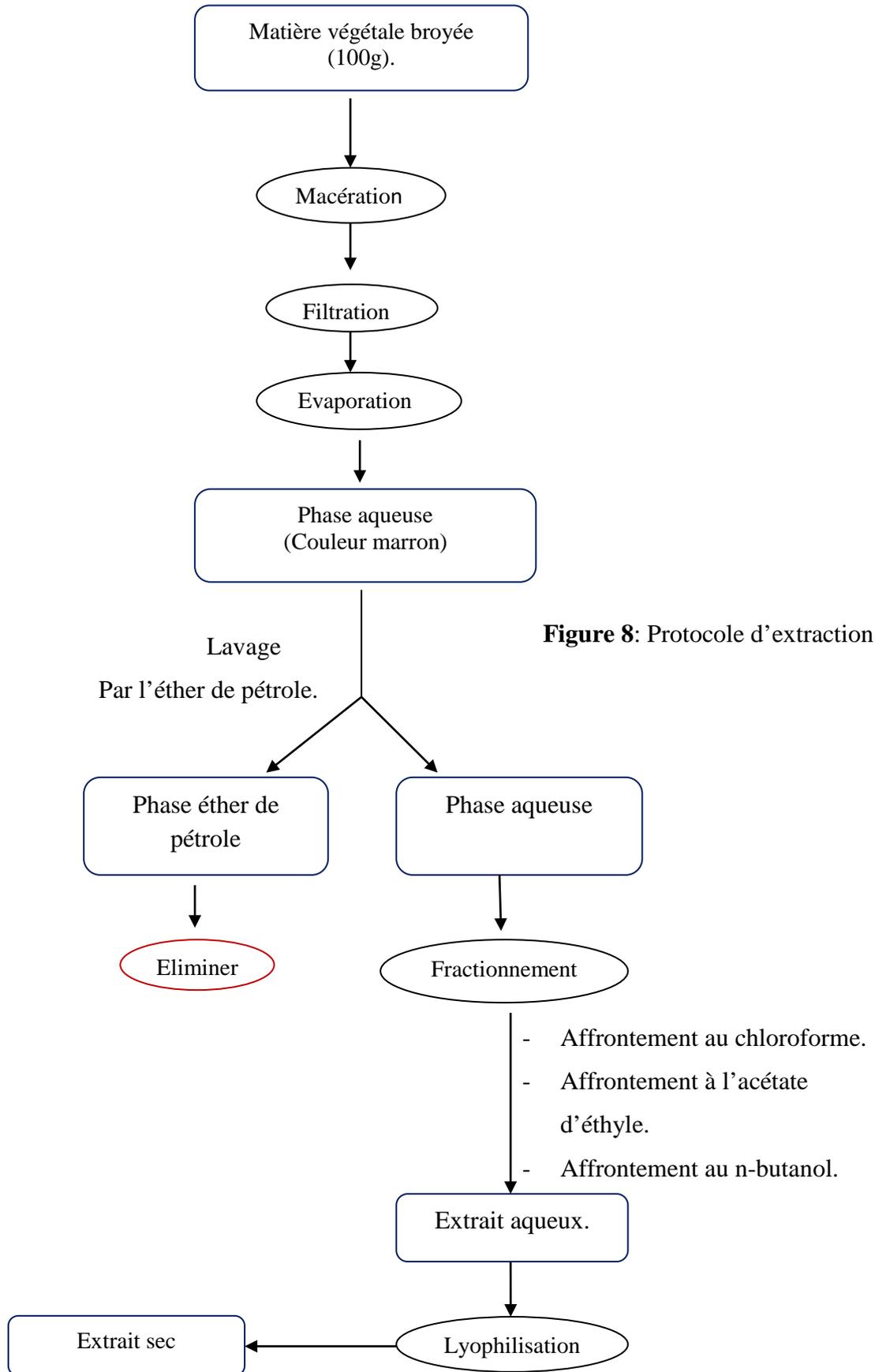
Les affrontements ont été opérés dans des ampoules à décanter, la phase aqueuse et le solvant (v/v) sont mélangés énergétiquement en laissant sortir chaque fois les gaz produits. Après un repos d'une trentaine de minutes, la phase eau et la phase organique chargée de ces moléculaires spécifiques ont été récupérées.

Les trois solutions récoltées ont été concentrées par évaporation de leurs solvants sous pression réduite à sec à 65° C (chloroforme), 65° C (acétate d'éthyle) et 70° C (n-butanol), en utilisant l'évaporateur rotatif ; l'extrait résultant a été considéré comme étant la fraction.

**d) Lyophilisation**

Est une méthode pour obtenir à la fin des extraits secs : chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), du n-butanol (n-B) et finalement le raffinat qui en résulte représente la phase aqueuse résiduelle (Aq).

Les lyophilisats ont été pesés pour calculer le rendement de l'extraction, exprimé en gramme de lyophilisat par 100g de matière sèche.



## II. Analyse phytochimique

### II.1. Analyse qualitative

Les fractions résultantes ont été soumises à divers tests phytochimiques, en vue de quantifier les composés phénoliques disponibles dans chacun des 3 organes de *Thymelaea hirsuta*, séparément. Ces essais ont été menés selon des techniques spécifiques.

### II.2. Analyse quantitative

#### 1. Rendements des extraits

Que se soit pour les feuilles, les fleurs ou les brindilles, les rendements des fractions (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol), ont été calculés selon la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P1 - P2) / P3$$

**P1** : Poids du ballon après lyophilisation ;

**P2** : Poids du ballon avant lyophilisation (ballon vide) ;

**P3** : Poids de la matière végétale de départ.

#### 2. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Miliauskas et al. (2004). Un volume de 1ml de l'échantillon à doser (fraction ou substance de référence) a été mélangé avec un volume de 5ml de Folin Ciocalteu (2M dilué 10 fois dans l'eau distillée) et un volume de 4ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à concentration de 75g/l. Après une incubation de 60mn à la température ambiante, l'absorbance du mélange a été lue avec un blanc fait à partir d'eau distillée à une longueur d'onde de 765nm, à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6715 UV-Visible. La teneur des composés phénoliques totaux, exprimée en équivalent acide gallique (GAE)/gramme de lyophilisat, a été déterminée en se basant sur une courbe d'étalon obtenue à partir d'une série de dilution d'acide gallique, allant de 10 à 100 $\mu\text{g/ml}$ .

#### 3. Dosage des flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes totaux contenus dans les fractions de feuilles, fleurs et brindilles de *Thymelaea hirsuta* a été déterminée en appliquant la méthode décrite par Chang et al. (2002).

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner avec le groupement CO un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et Aluminium). Ceci traduit le fait que le métal

(Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972).

Un volume de 0,75ml d' $\text{AlCl}_3$  (2%) a été mélangé à un volume égal de la fraction (2mg/ml). Les densités optiques ont été lues à 430nm après 10 minutes d'incubation à l'aide du spectrophotomètre, contre une courbe d'étalonnage préalablement tracée avec la rutine comme substance de référence (100-1000 $\mu\text{g/ml}$ ). Les expressions des résultats ont été obtenues à partir de l'équivalence du standard par gramme de lyophilisat (mg ER/g. Lyo).

#### 4. Dosage des flavonols

Le contenu en flavonols a été déterminé en utilisant comme référence la rutine (10-100 $\mu\text{g/ml}$ ). Un millilitre de la fraction à doser (2mg/ml) a été mélangé avec 1ml de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (20mg/ml) et 3ml de la solution d'acétate de sodium (50mg/ml). Le mélange a été gardé pour 2,5h à la température ambiante et observé à 440nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Abdel-Hameed, 2009).

Les teneurs en flavonols ont été exprimées en milligramme équivalent standard (Rutine) par gramme de lyophilisat (mg ER/g. Lyo.).

### III. Tests antioxydants

#### III.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant des différents lyophilisats a été mesurée par la méthode du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Pour l'échantillon végétal et pour l'antioxydant de référence, 50 $\mu\text{l}$  de chaque concentration dans du méthanol a été additionné à 5ml DPPH solution dans du méthanol (0,004%). L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre après 30min à la longueur d'onde de 517nm. Le pourcentage de décoloration du DPPH a été déterminé par la formule :

$$[1 - (\text{Absorbance du test} / \text{Absorbance du contrôle})] \times 100$$

où le contrôle négatif est constitué par la solution DPPH sans extrait.

#### III.2. Test du piégeage des radicaux ABTS

Cette méthode est basée sur la décoloration d'un cation radicalaire stable,  $\text{ABTS}^+$  (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) en ABTS en présence de composés antiradicalaires car le cation radicalaire chromophore  $\text{ABTS}^+$  de couleur bleu-vert directement produit par réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium a une absorption maximale à 734 nm (Ré *et al.*, 1999).

A une solution d'ABTS dans l'eau 7mM ont été ajoutées une solution de persulfate de potassium à 2,45mM pour obtenir une concentration finale de 3,5mM. Le mélange a été agité une

nuit dans le noir à température ambiante pour former le radical cation ABTS<sup>+</sup>. Avant utilisation, la solution a été diluée dans de l'éthanol afin d'obtenir une absorbance voisine de 0,70 à 734nm.

A cinq millilitres de solution d'ABTS<sup>+</sup> (immédiatement utilisé après préparation), 50µl de cette solution ont été ajoutés à chaque série d'extrait (0,2, 0,4, 0,6 et 0,8mg/ml). Après 10min d'incubation, l'absorbance des solutions a été mesurée à 734nm (Huang et al., 2011).

La capacité antioxydante des extraits de *Thymelaea hirsuta* a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS suivant l'équation:

$$\% \text{Inhibition} = [\text{A control} - (\text{A échantillon} - \text{A blanc}) / \text{A control}] \times 100$$

Où :

**A control** : Correspond à l'absorbance du control

**A échantillon** : Absorbance de la solution en présence de molécules testées

**A blanc** : Correspond à l'absorbance du blanc (5ml éthanol + 50µl de chaque échantillons)

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; Trolox dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test a été répété 3fois. Alors que le control négatif est constitué par 5mL éthanol au lieu de l'échantillon ou de l'antioxydant de synthèse.

## VI. Analyse statistique

Chaque expérience a été répétée trois fois, les valeurs sont représentées par la moyenne ± écart type. Les résultats ont été analysés par le test ANOVA et la valeur  $p < 0,05$  est considérée significative. Les tests de corrélations entre variables ont été effectués à l'aide du Microsoft Excel 2007.. Le coefficient de corrélation utilisé est celui de Pearson (r), également appelé coefficient de corrélation linéaire.

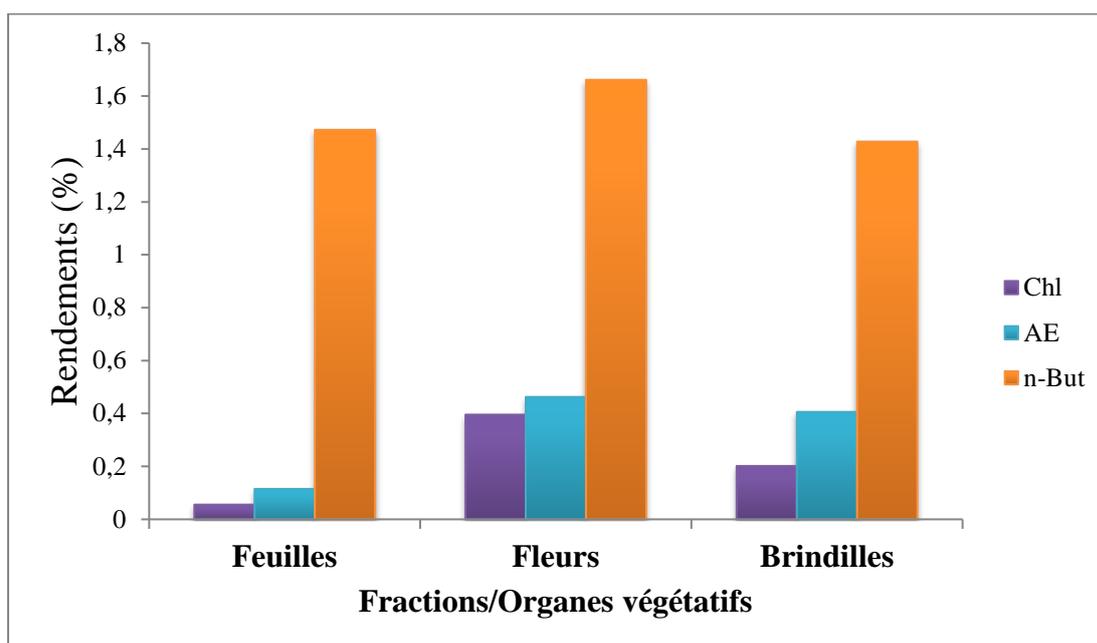
## II. Résultats et discussion

### 1. Rendement

Après extraction, lyophilisation et récupération des extraits, le rendement de chacun des extraits a été déterminé et représenté dans le tableau 6 et la figure 9 :

**Tableau 6:** Rendements (%) des fractions (Chl – AE – n-But) issues des feuilles, fleurs et brindilles de *Thymelaea hirsuta* L.

Fractions/Organes végétatifs	Rendements (%) MS		
	Feuilles	Fleurs	Brindilles
Chloroforme	0,0556	0,3958	0,2017
Acétate d'éthyle	0,1149	0,4626	0,406
n-Butanol	1,4724	1,6614	1,4279



**Figure 9:** Rendements des extraits en % MS.

En se référant aux résultats (tableau 6), les rendements varient entre 0,0556 et 1,6614%. Les plus rentables sont les extraits n-butanoliques, soit 1,6614 - 1,4724 et 1,4279% issues

respectivement des fleurs, feuilles et brindilles, suivi de ceux d'acétate d'éthyle des fleurs (0,4626%) et des brindilles (0,406%).

Comparativement, les fractions chloroformiques des fleurs et des brindilles représentent des taux inférieurs à ceux obtenus précédemment avec 0,3958 et 0,2017%, respectivement. Cependant, celle d'acétate d'éthyle foliaire montre une valeur relativement faible : 0,1149%. Quant à l'extrait des feuilles obtenu par le chloroforme, un rendement de 0,0556% a été noté.

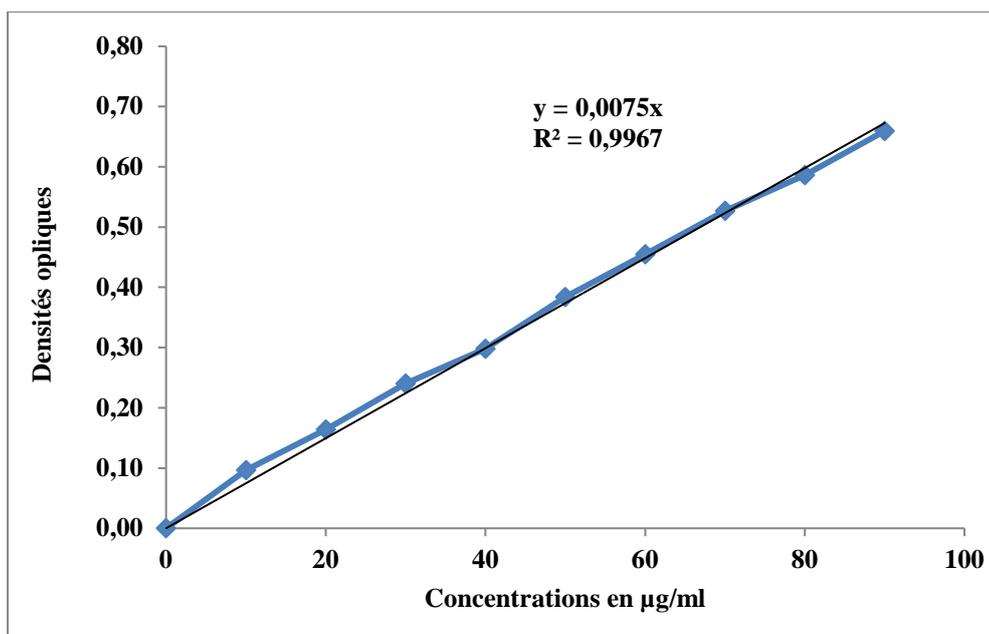
Le chloroforme permet l'extraction des aglycones méthoxylés et hydroxylés, l'acétate d'éthyle permet l'extraction des aglycones polyhydroxylés et monoglycosylés, et en dernier le n-butanol qui donne le rendement important, accède aux hétérosides polyglycosylés et aussi les hétérosides de type C-glycosyle (Meratate, 2013).

**Tableau 7** : Aspects physiques et couleurs des fractions (Chl – AE – n-But) issues des feuilles, fleurs et brindilles de *Thymelaea hirsuta* L.

Fraction / Organes végétatifs	Feuilles		Fleurs		Brindilles	
	Aspects physiques	Couleurs	Aspects physiques	Couleurs	Aspects physiques	Couleurs
<b>Chloroforme</b>	Poudre	Bleu verte	Pate	Marron	Poudre	Marron
<b>Acétate d'éthyle</b>	Pate	Marron caramel	Pate	Marron	Poudre	Jaune doré
<b>n-Butanol</b>	poudre	Jaune doré	poudre	Jaune doré	poudre	Jaune doré

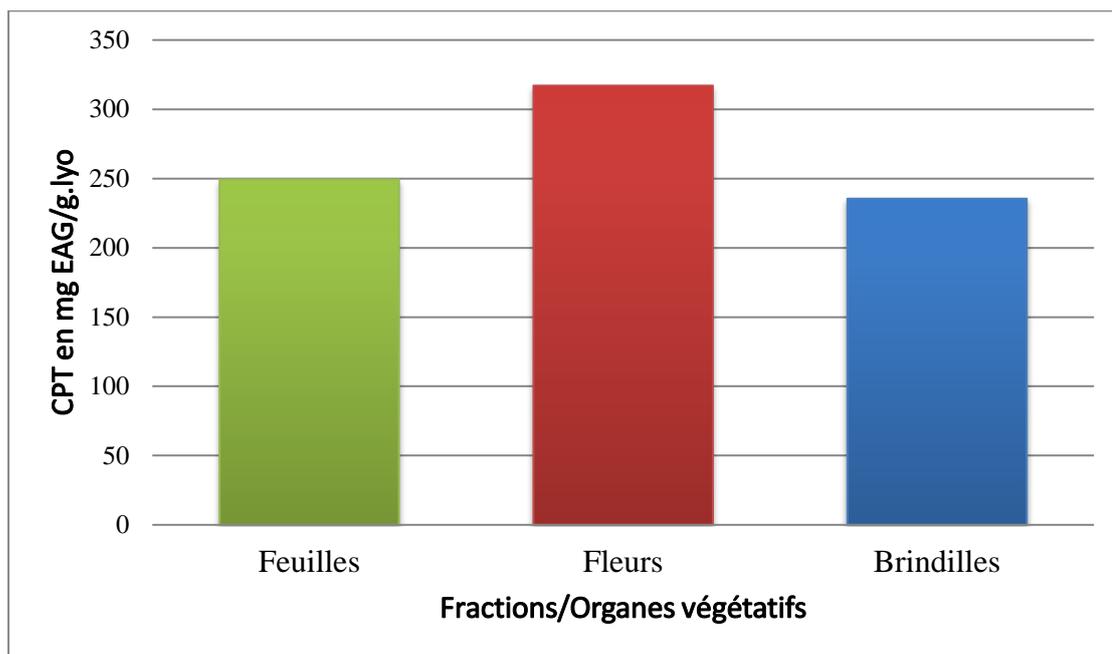
## 2. Composés phénoliques totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes à chaque extrait ont été exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de lyophilisat et déterminés par l'équation de type :  $y = 0,0075x$  avec  $R^2 = 0,9967$  (Fig. 10).



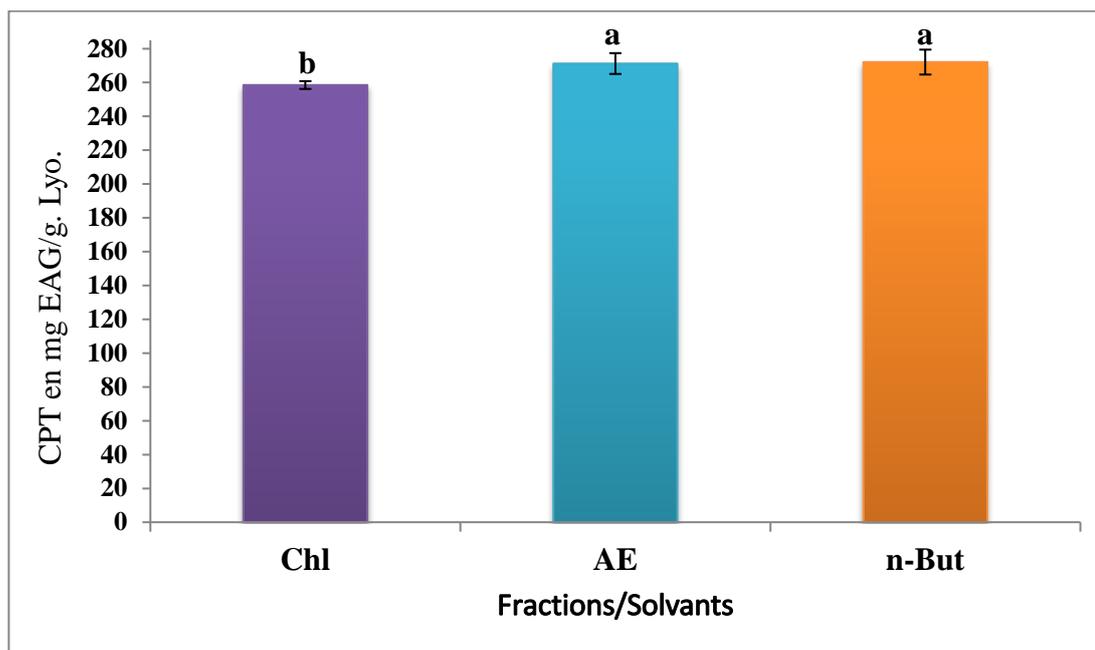
**Figure 10** : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Selon la figure 11, les contenus en composés phénoliques totaux des 3 organes de *T. hirsuta* montrent une différence significative ( $F_{2,2}=394,993$ ;  $P=0$ ). En effet, les fleurs enregistrent une teneur de  $317,067 \pm 5,64$ , suivie de celle des feuilles ( $249,393 \pm 6,5$  mg EAG/g. lyo.) avec un écart de  $67,674$  mg EAG/g. de lyophilisat. Parallèlement, les brindilles notent  $235,467 \pm 3,71$  mg EAG/g. Lyo; Valeur légèrement inférieure à celle obtenue préalablement.



**Figure 11** : Teneur des phénoliques totaux en mg EAG/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta*. Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

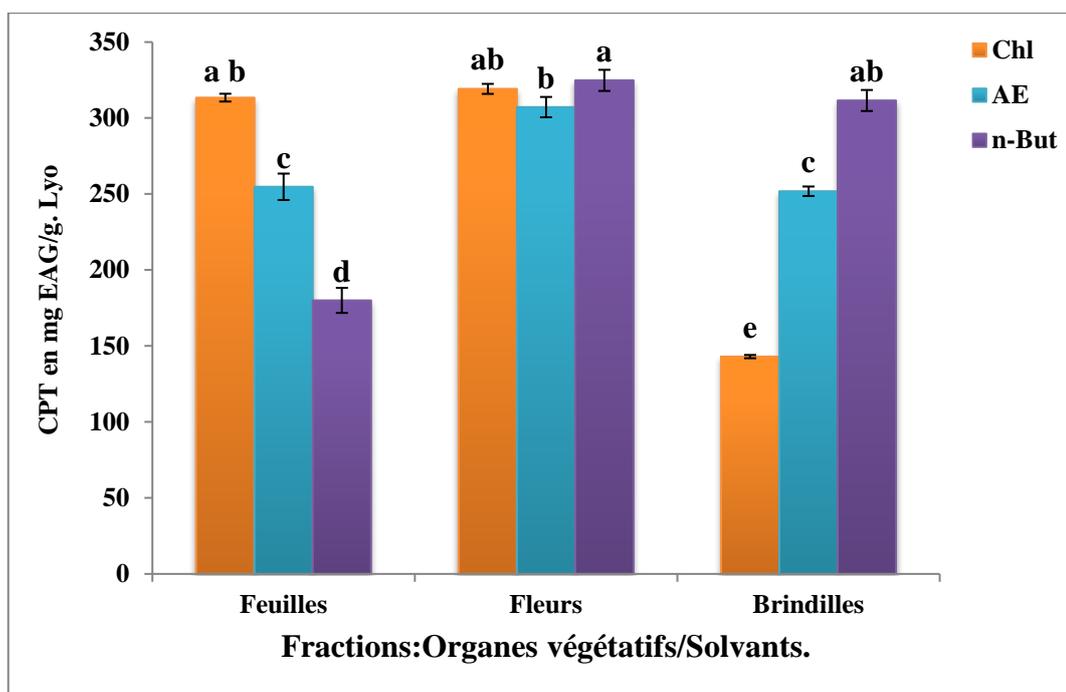
Par rapport aux solvants, une différence significative a été décelée ( $F_{2,2}=11,971$ ;  $P=0,00054$ ). Le chloroforme s'est montré moins efficace, la quantité obtenue a été estimée à  $258,548 \pm 2,31$  mg EAG/g. Lyo. Cependant, l'acétate d'éthyle et le n-butanol enregistrent des teneurs statistiquement égales, soit  $271,259 \pm 6,17$  et  $272,11 \pm 7,371$  mg EAG/g. Lyo., respectivement.



**Figure 12** : Teneur des composés phénoliques totaux en mg EAG/g. Lyo. des fractions (Chloroforme (Chl), Acétate d'éthyle (AE), n-Butanol (n-But)) de *Thymelaea hirsuta*. Moyennes suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

De nombreuses études ont montré et justifié l'importance des solvants dans l'extraction des composés phénoliques. Selon Bhat et *al.* (2012) ; Naczki et Shahidi (2006), la récupération des polyphénols et d'autres composés antioxydants de la matière végétale dépend, considérablement, de la solubilité de ces composés dans un solvant donné, de la polarité des solvants et de la viscosité. Ainsi, les solvants tels que le méthanol et l'acétone peuvent atteindre facilement les endroits intracellulaires.

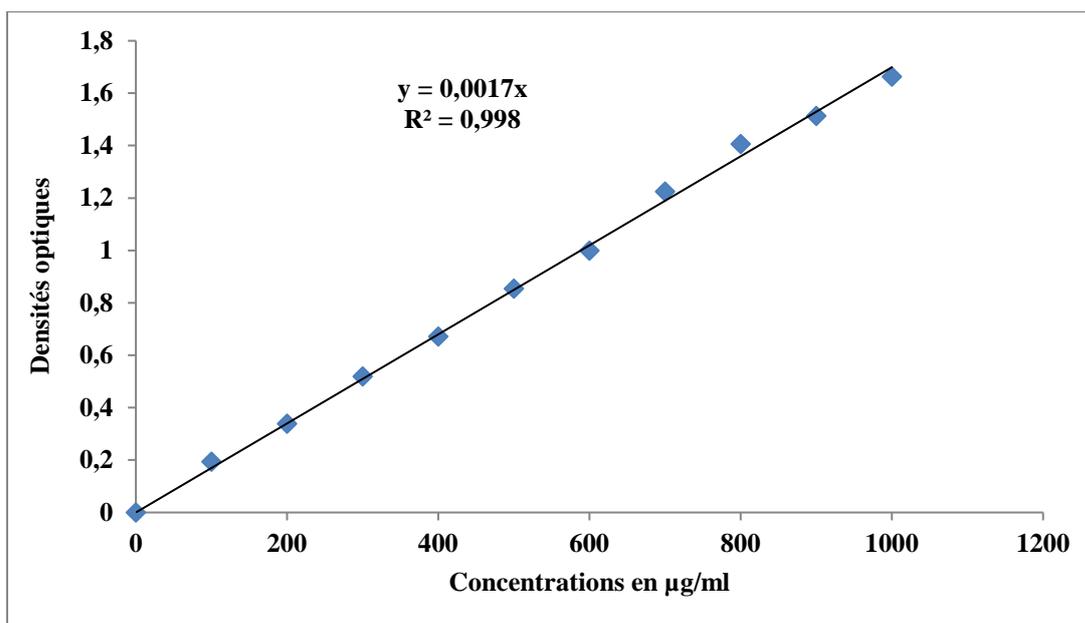
Comme il ressort de la figure 13, l'interaction ( $F_{2,2} = 403,589$ ;  $P = 0$ ) entre les deux facteurs (organe et solvant) montre que l'extrait n-butanolique des fleurs est le plus riche en polyphénols totaux avec un taux relevant  $324,8 \pm 6,25$  mg EAG/g. Lyo., suivi de ceux chloroformiques fleurs et feuilles, et d'acétate d'éthyle brindilles avec des taux de l'ordre de  $319,2 \pm 3,29$  -  $313,422 \pm 2,57$  et  $311,556 \pm 6,92$  mg EAG/g. Lyo., respectivement. Avec une teneur moindre, l'extrait d'acétate d'éthyle fleurs a révélé  $307,2 \pm 6,69$  mg EAG/g. Lyo. Beaucoup moins, les lyophilisats issus de l'acétate d'éthyle feuille ( $254,756 \pm 8,69$ ) et brindille ( $251,822 \pm 3,12$  mg EAG/g. Lyo.) ont été montrés moyennement riches en composés phénoliques totaux. Cependant, avec des valeurs amincies, l'extrait n-butanolique feuille représenté par une valeur faible en polyphénols totaux ( $180 \pm 8,24$  mg EAG/g lyo), a été suivi par le chloroforme brindille :  $143,022 \pm 1,08$  mg EAG/g. Lyo.



**Figure 13:** Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g. lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta*. Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

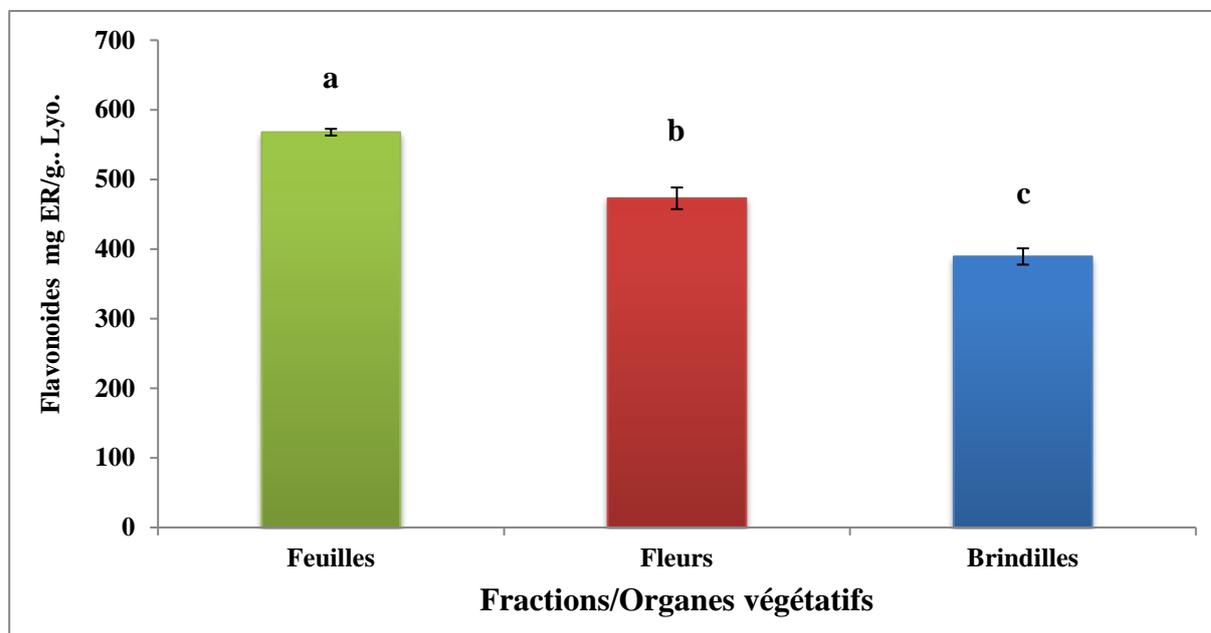
### 3. Flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et l'étalon avec la rutine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent rutine par gramme de lyophilisat (mg ER/g. Lyo.). Les taux de flavonoïdes des trois extraits ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y = 0,0017x$ , sachant que  $R^2 = 0,998$  (fig. 14).



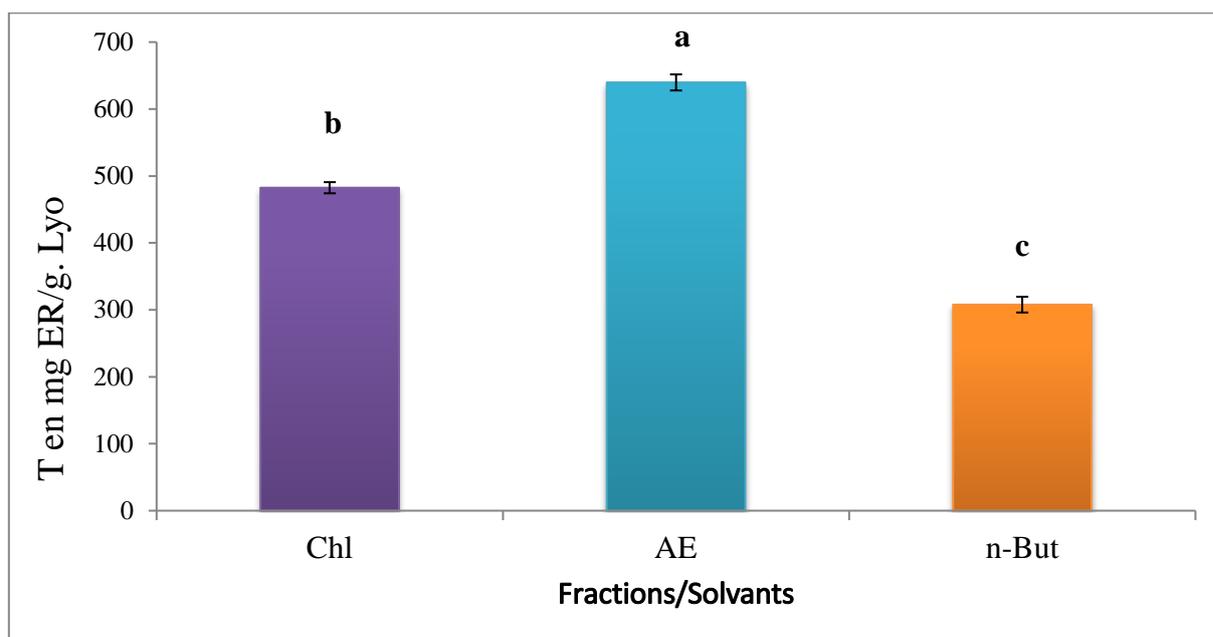
**Figure 14:** Courbe d'étalonnage de la rutine.

Contrairement aux composés phénoliques totaux, les flavonoïdes (Fig. 15) se sont montrés plus présents dans les feuilles ( $F_{2,2}=414,89$  ;  $P=0$ ) avec  $567,833\pm 4,77$  mg ER/g. Lyo., suivi des fleurs ( $472,833\pm 15,60$ ) et enfin les brindilles :  $389,278\pm 11,70$  mg ER/g. lyo.



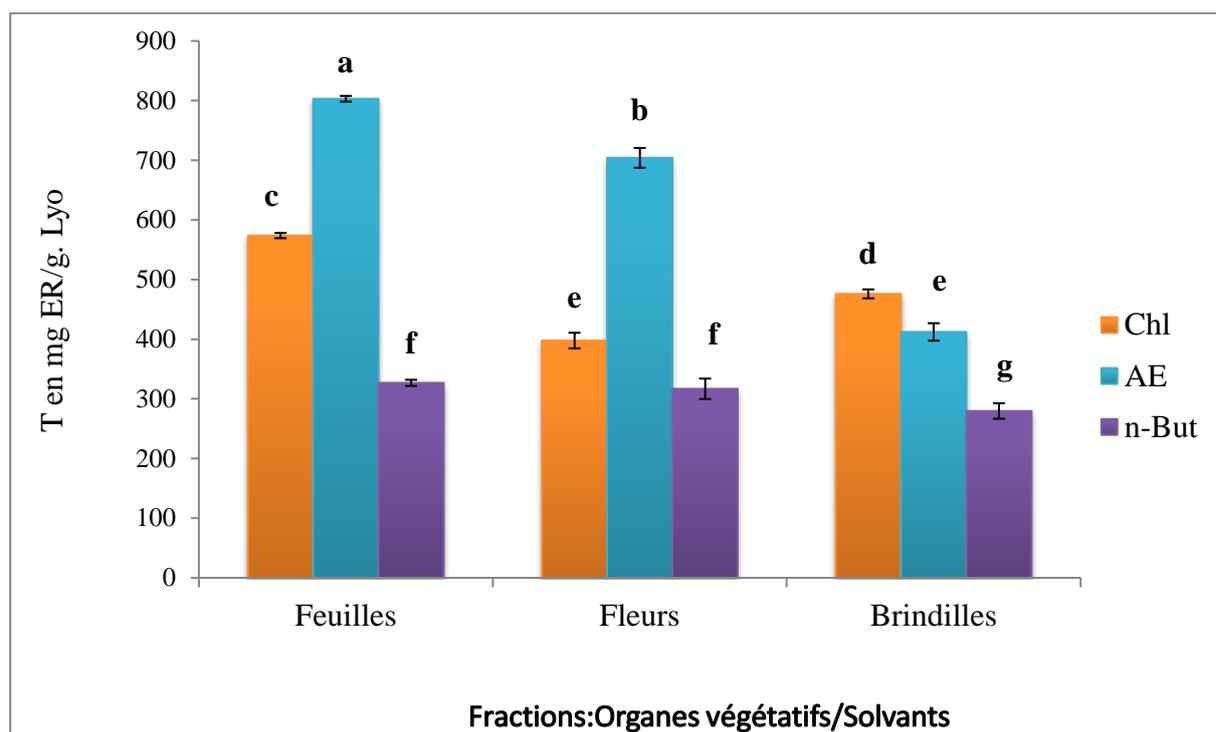
**Figure 15:** Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta* L. Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p<0,05$ )

Suivant la figure 16, la fraction donnant la plus grande teneur en flavonoïdes ( $F_{2,2}=1433,23$ ;  $P=0$ ) est celle d'acétate d'éthyle ( $639,722\pm 11,99$  mg ER/g. Lyo.), suivie largement par celle chloroformique ( $482,445\pm 8,33$  mg ER/g. Lyo.), contrairement à la fraction n-butanolique ayant enregistré une valeur minimale ;  $307,778\pm 11,74$  mg ER/g. Lyo.



**Figure 16** : Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) de *Thymelaea hirsuta*. Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

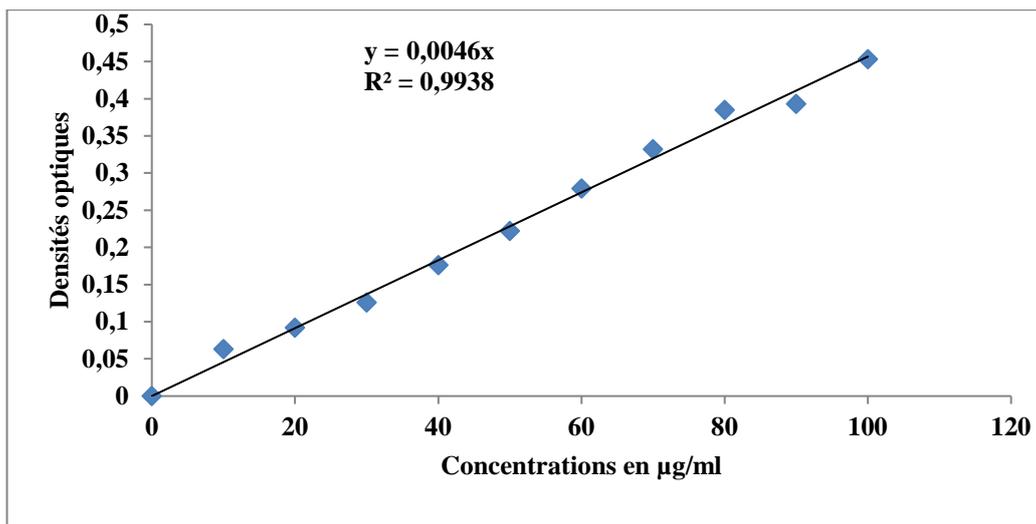
La figure 17 ( $F_{2,2} = 222,956$ ;  $P=0$ ) indique que la fraction n-butanolique est la moins représentée par les flavonoïdes, que se soit dans les feuilles, les fleurs ou les brindilles avec respectivement  $326,833 \pm 5,14$  -  $316,833 \pm 17,13$  et  $279,667 \pm 12,96$  mg ER/g. Lyo. Alors des teneurs relativement supérieures, de l'ordre de  $397,66 \pm 13,09$  et  $412,167 \pm 14,63$  mg ER/g. Lyo. Ont été décelées au niveau des fractions chloroformique fleurs et acétate d'éthyle brindilles. Cependant, des valeurs plus importantes ont notées lorsque les fractions ont été obtenues par le chloroforme brindilles ( $476 \pm 7,51$ ) et feuilles ( $573,667 \pm 4,4$  mg ER/g. Lyo.). Les fortes teneurs ont été exhibées par l'acétate d'éthyle des fleurs ( $704 \pm 16,57$  mg ER/g. Lyo.) et des feuilles  $803 \pm 4,78$  mg ER/g. Lyo.



**Figure17:** Teneur des flavonoïdes totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta L.* Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

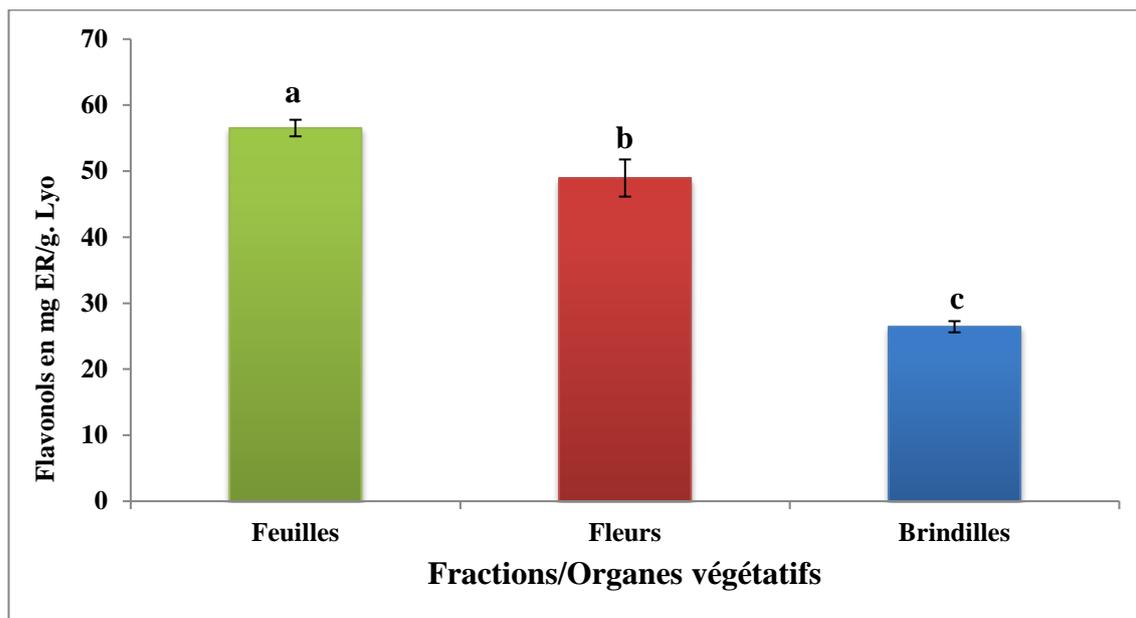
#### 4. Flavonols

L'analyse des flavonols a été réalisée par la méthode décrite par (Abdel-hameed, 2009), en utilisant comme standard la rutine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent rutine par gramme de lyophilisat (mg ER/g. Lyo). Les teneurs en flavonols des extraits ont été obtenues à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y=0,004x$  et  $R^2 = 0,993$  (figure 18).



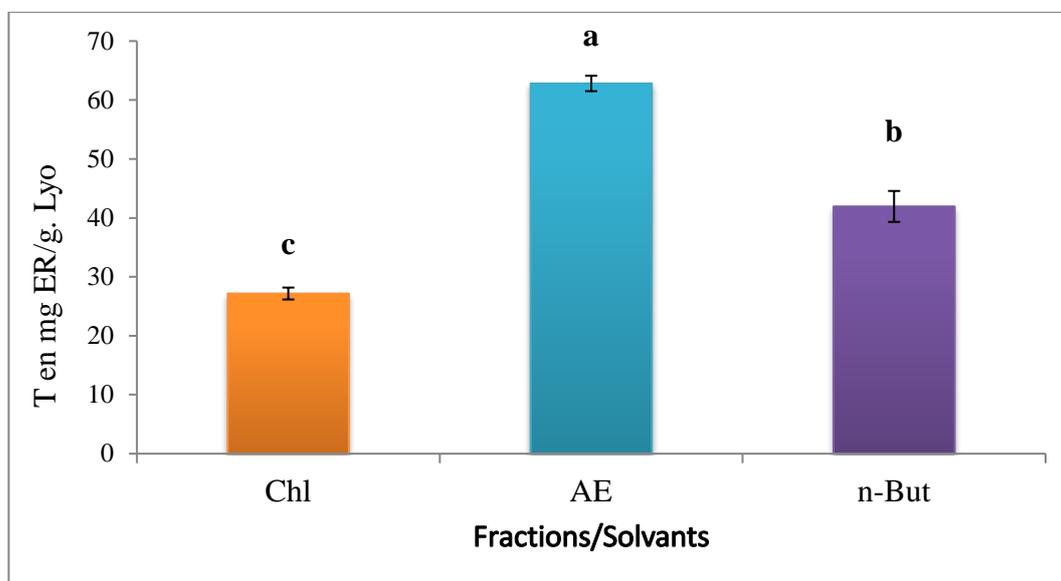
**Figure 18:** Courbe d'étalonnage de la rutine.

Comme reporté pour les flavonoïdes, l'abondance des flavonols est également observée au niveau des feuilles (Fig. 19) par rapport aux fleurs et aux brindilles ( $F_{2,2} = 352,00$  ;  $P=0$ ). Les teneurs sont de l'ordre de  $56,528 \pm 1,26$  -  $48,958 \pm 2,81$  et  $26,431 \pm 0,85$  mg ER/g. Lyo., respectivement.



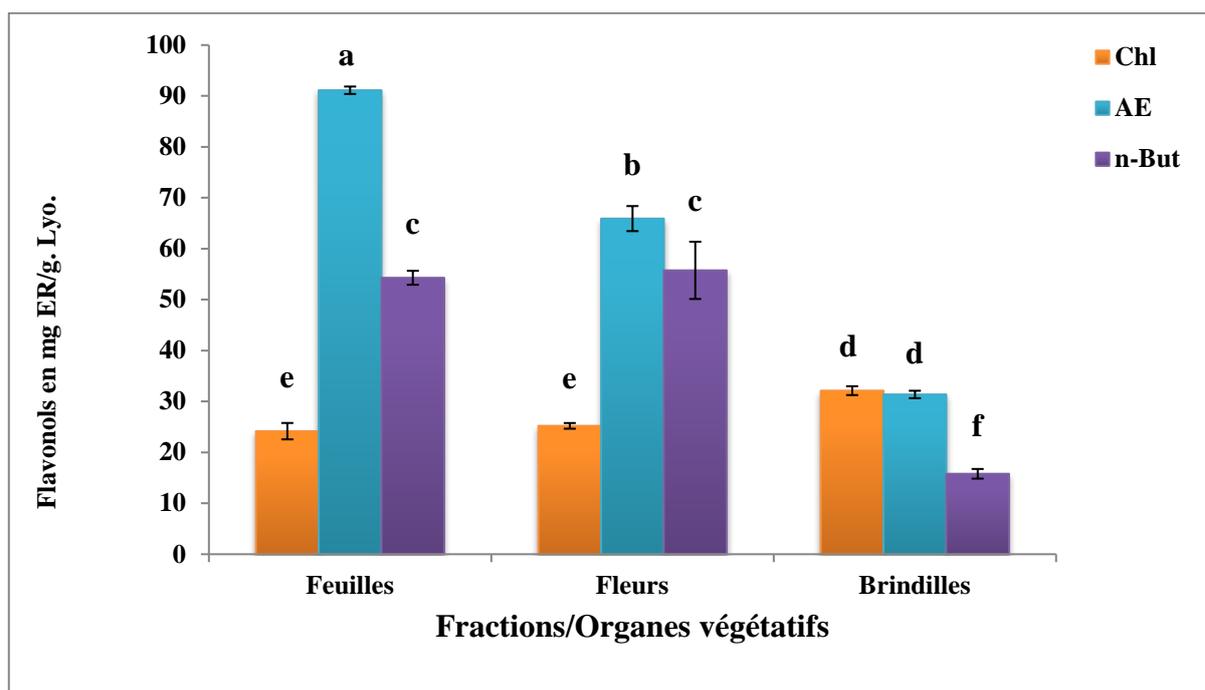
**Figure 19** : Teneur des flavonols totaux en mg ER/g. Lyo des organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta* L. Moyenne suivies des lettres différentes différent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

Par rapport aux solvants, l'acétate d'éthyle semble être plus efficace dans l'accumulation des flavonols ( $F_{2,2}=460,44$ ;  $P=0$ ), avec  $62,806 \pm 1,31$ , contrairement à celles obtenues le n-butanol ( $41,94 \pm 2,63$ ) et le chloroforme ( $27,176 \pm 1,01$  mg ER/g. Lyo.).



**Figure 20** : Teneur des flavonols totaux en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) de *Thymelaea hirsuta* L. Moyenne suivies des lettres différentes différent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ )

D'une manière interactive, selon les résultats présentés dans la figure 21 ( $F_{2,2}=166,751$ ;  $P=0$ ), la faible teneur en flavonols est celle obtenue par fraction n-butanolique des brindilles à mg ER/g. Lyo, suivi par la chloroformique feuilles et fleurs avec respectivement  $15,792\pm 0,95$  -  $24,167\pm 1,61$  et  $25,208\pm 0,56$  mg ER/g. Lyo. Alors que celles des brindilles issues de l'acétate d'éthyle et le chloroforme ont été estimées à  $31,375\pm 0,73$  et  $32,124\pm 0,87$  mg ER/g. Lyo, respectivement. La fraction n-butanolique des feuilles et des fleurs sont relativement plus riches et notent  $54,292\pm 1,37$  et  $55,75\pm 5,62$  mg ER/g. lyo, Les accumulations les plus colossales sont attribuées aux fractionx d'acétate d'éthyle des fleurs et celle des feuilles, tout en enregistrant  $65,917\pm 2,46$  et  $91,125\pm 0,73$  mg ER/g. Lyo.



**Figure 21** : Teneurs des flavonols en mg ER/g. Lyo des fractions (chloroformique (Chl), d'acétate d'éthyle (AE), n-butanolique (n-But)) dans les organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *Thymelaea hirsuta* L. Moyenne suivies des lettres différentes diffèrent significativement (Newman-Keuls;  $p < 0,05$ ).

D'une manière générale, les feuilles sont très riches en flavonoïdes et flavonols, parce que les flavonols constituent une part intégrante parmi les flavonoïdes, contrairement aux phénols totaux qui sont montrés beaucoup plus dans les fleurs (Tab.8).

**Tableau 8.** Contenu des phénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux des fractions (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol), dans les différents organes (feuilles, fleurs, brindilles) de *thymelaea hirsuta* L.

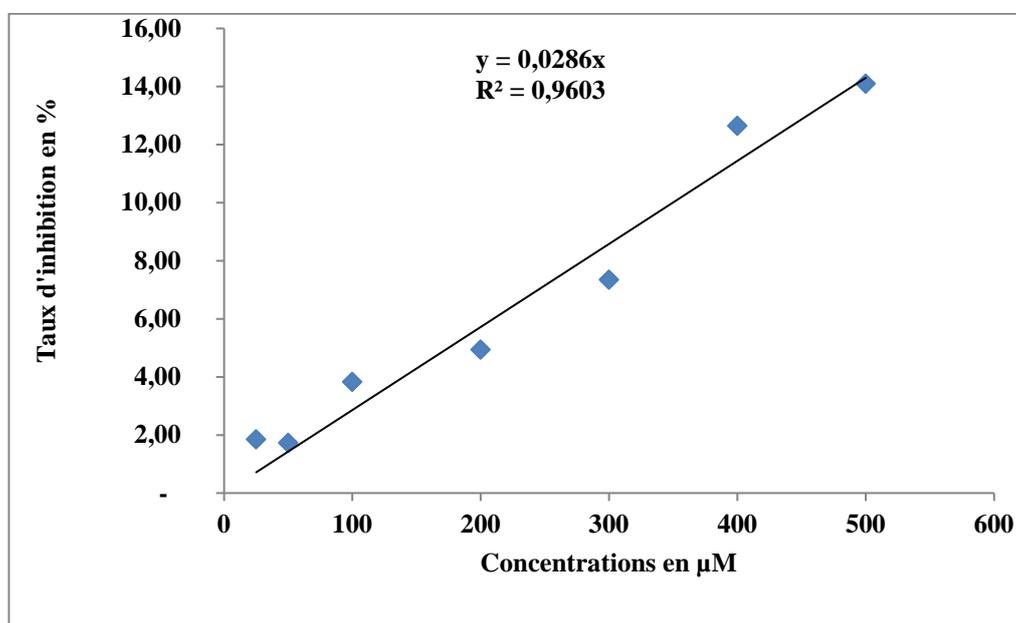
Fraction	Phénols totaux (mg EAG/g. Lyo.)			Flavonoïdes (mg ER/ g. Lyo.)			Flavonols (mg ER/ g. Lyo.)		
	Feuilles	Fleurs	Brindilles	Feuilles	Fleurs	Brindilles	Feuilles	fleurs	Brindilles
<b>Chloroforme</b>	313,422±2,57	319,2±3,29	143,022±1,08	573,667± 4,4	397,667±13,09	476±7,51	24,167±1,61	25,208±0,56	32,125±0,87
<b>Acétate d'éthyle</b>	254,756±8,69	307,2±6,69	251,822±3,12	803±4,78	704±16,57	412,167±14,63	91,125±0,73	65,917±2,46	31,375±0,73
<b>n-butanol</b>	180±8,24	324,8±6,95	311,556±6,92	326,833±5,14	316±17,13	279,667±12,96	54,292±1,37	55,75±5,62	15,792±0,95

## 5. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de la plante de *Thymelaea hirsuta* a été réalisée par deux techniques (le piégeage du radical libre DPPH et le test du piégeage des radicaux ABTS<sup>+</sup>).

### 1. Le piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. Dans ce test, le Trolox comme standard a été utilisé. Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions) sont représentés dans la courbe d'étalonnage (Fig. 22), ayant l'équation:  $Y = 0,028x$  et  $R^2 = 0,96$



**Figure 22** : Évolution des taux d'inhibition de DPPH par le Trolox.

Les dilutions des extraits des *Thymelaea hirsuta* a été faite avec une gamme de concentrations allant de 0,2 -2mg/ml. Pour chaque concentration, sont mesurées les densités optiques à 517nm. Les taux d'inhibition ont été calculés pour chacune des concentrations, en se basant sur les densités optiques obtenus à partir des différentes concentrations.

Le tableau 9 représente les résultats des taux d'inhibition du radicale libre DPPH par les extraits de la plante de *T. hirsuta*.

**Tableau 9:** Résultats des taux d'inhibition de DPPH en % par les fractions de *T. hirsuta*.

C ( $\mu\text{g/ml}$ )	Feuilles			Fleurs			Brindilles		
	Chl	AE	n-But	Chl	AE	n-But	Chl	AE	n-But
200	4,98 $\pm$ 0,73	1,12 $\pm$ 2,08	7,78 $\pm$ 1,32	2,98 $\pm$ 0,91	4,77 $\pm$ 2,88	5,38 $\pm$ 0,96	9,51 $\pm$ 1,49	2,51 $\pm$ 0,69	5,09 $\pm$ 0,42
600	9,27 $\pm$ 0,41	12,89 $\pm$ 2,49	13,40 $\pm$ 3,46	6,43 $\pm$ 1,28	13,47 $\pm$ 1,26	11,97 $\pm$ 2,22	20,48 $\pm$ 1,85	5,14 $\pm$ 0,56	7,99 $\pm$ 5,60
1000	9,95 $\pm$ 1,50	23,52 $\pm$ 0,34	15,72 $\pm$ 5,92	17,01 $\pm$ 0,12	21,59 $\pm$ 0,63	19,50 $\pm$ 1,01	30,28 $\pm$ 1,97	9,72 $\pm$ 1,19	13,17 $\pm$ 2,38
1400	13,17 $\pm$ 0,49	31,61 $\pm$ 1,35	24,44 $\pm$ 2,36	18,43 $\pm$ 2,07	31,82 $\pm$ 2,05	28,04 $\pm$ 6,61	34,47 $\pm$ 2,59	13,53 $\pm$ 1,08	16,13 $\pm$ 1,77
1800	15,51 $\pm$ 0,90	41,06 $\pm$ 1,90	34,42 $\pm$ 0,98	24,05 $\pm$ 1,70	40,64 $\pm$ 2,22	35,08 $\pm$ 2,22	38,69 $\pm$ 1,13	14,69 $\pm$ 0,60	23,09 $\pm$ 0,42
2000	18,05 $\pm$ 0,32	42,33 $\pm$ 4,58	31,64 $\pm$ 2,89	28,88 $\pm$ 2,54	46,26 $\pm$ 2,00	38,63 $\pm$ 1,94	31,01 $\pm$ 14,13	15,60 $\pm$ 2,57	22,91 $\pm$ 1,53

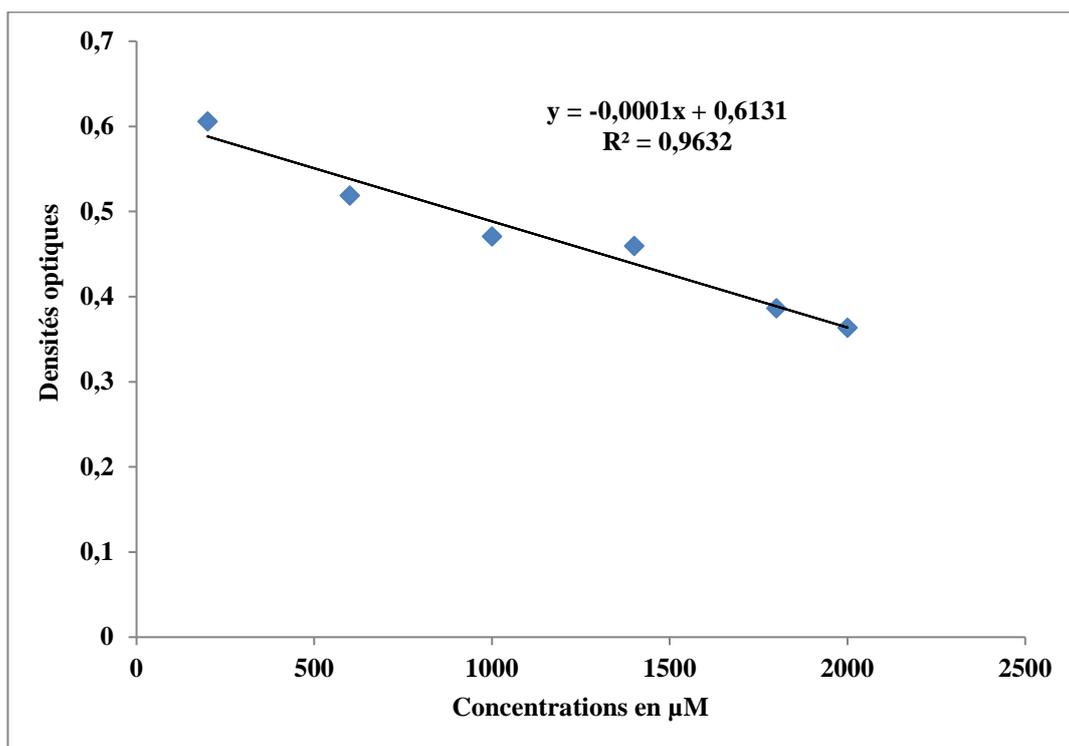
Les résultats présentés dans le tableau précédent montrent que la capacité de réduction du radical est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits. Ceci a pu être confirmé par beaucoup d'autres auteurs (Amari et *al.*, 2014). D'autres études montrent que l'augmentation de l'activité dépend de l'augmentation de la polarité des solvants (Ardestani, 2007 ; Matanjun *et al.*, 2008 ; Atmani, 2009 ; Li et *al.*, 2009).

Le maximum d'inhibition a été marqué avec l'acétate d'éthyle des fleurs à raison de 2mg/ml, avec 46,26%. Cette valeur est légèrement supérieure à celle des feuilles obtenue avec le même solvant ( $42,33 \pm 4,58$ ). Il est à noter que la première est riche en flavonoïdes ( $803 \pm 4,78$  mg ER/g. Lyo.) et la deuxième en flavonols ( $91,125 \pm 0,73$  mg ER/g. Lyo.). Cette constatation a été vérifiée par Gursoy et *al.* (2009), supposant que la majorité des flavonoïdes sont non antioxydants. Alors que Cai et *al.* (2006) suggèrent que les flavonols sont responsables d'une meilleure activité anti-DPPH.

## 1. le piégeage du radical libre ABTS

L'activité antioxydante d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>+</sup> obtenu à partir de l'ABTS, comparativement à un antioxydant de référence : Trolox.

Une courbe d'étalonnage de Trolox a été tracée avec  $y=0,0001x+0,613$  et  $R^2=0,963$



**Figure 23** : Courbe d'étalonnage de Trolox.

Le tableau suivant présente l'évolution des taux d'inhibition du cation ABTS<sup>+</sup> par rapport aux concentrations des extraits de *T. hirsuta*.

**Tableau 10:** Les résultats des taux d'inhibition d'ABTS en % par les extraits de *Thymelaea hirsuta ta*

C (µg/ml)	Feuilles			Fleurs			Brindilles		
	Chl	AE	n-But	Chl	AE	n-But	Chl	AE	n-But
<b>200</b>	12,45±1,97	15,46±2,67	8,80±0,82	6,07±3,61	4,29±3,45	3,92±0,98	13,20±0,76	18,84±5,47	3,70±0,29
<b>600</b>	3,49±0,30	38,22±2,02	36,23±3,00	27,64±0,61	34,84±3,42	30,43±3,37	39,08±4,97	34,89±13,00	17,71±4,04
<b>1000</b>	7,84±2,70	43,16±1,23	50,35±0,58	41,44±1,03	43,37±1,44	44,12±1,39	62,80±1,15	36,07±2,36	26,09±11,25
<b>1400</b>	18,09±2,11	75,04±1,77	69,03±1,79	50,94±0,61	54,32±2,31	55,34±3,67	65,00±1,17	32,85±1,01	30,33±1,61
<b>1800</b>	25,34±0,88	78,64±1,94	76,44±3,27	52,12±1,36	64,07±4,20	66,88±2,63	68,06±1,22	35,10±1,01	38,11±2,64
<b>2000</b>	29,25±5,66	96,24±5,66	82,34±1,42	54,27±1,51	79,17±1,09	79,35±1,26	83,52±0,84	32,05±4,68	43,69±0,94

Selon les résultats du tableau 10, la majorité des extraits ont dépassé 50% d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup>, contrairement au test de DPPH. Ils ont permis d'atteindre 96,24% comme une valeur maximale montrée par l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles. Le minimum de 29,25% a été enregistré par l'extrait chloroformique des feuilles.

Ces différences dépendent de la méthode utilisée et même du radical étudié.

Le mécanisme de travail de la méthode ABTS pour l'évaluation de l'activité antioxydante est la même que celle de la méthode DPPH, mais la méthode ABTS est plus fiable que DPPH en raison de la solubilité du réactif ABTS dans les deux solvants aqueux par rapport au DPPH (Teow et *al.*, 2007). Pour laquelle, le dosage ABTS est meilleur que le DPPH lorsqu'il est appliqué aux végétaux contenant des propriétés hydrophiles, lipophiles, et des composés antioxydants à haute pigmentation (Floegel et *al.*, 2011).

## 2. Corrélation entre les activités antioxydantes (ABTS et DPPH) des extraits

D'après les tableaux 11, 12,13), une bonne corrélation est observée entre l'activité antioxydante, mesurée par la méthode du test DPPH et ABTS avec l'évolution des extraits. La plus forte corrélation marquée c'est celle établie ente l'extrait chloroformique (ABTS, DPPH) des brindilles avec 98,30%. Alors que le faible (58,48%) a été marquée chez l'extrait d'acétate d'éthyle (ABTS, DPPH) des brindilles.

**Tableau 11:** Corrélations entre les activités antioxydantes des feuilles de *Thymelaea hirsuta*.

	Chl ABTS	AE ABTS	n-But ABTS
Chl DPPH	0,97707298	-	-
AE DPPH	-	0,9744053	-
n-But DPPH	-	-	0,947912

**Tableau 12:** Corrélation entre les activités antioxydantes des fleurs de *Thymelaea hirsuta*.

	Chl ABTS	AE ABTS	n-But ABTS
Chl DPPH	0,9290299	-	-
AE DPPH	-	0,9716842	-
n-But DPPH	-	-	0,97300596

**Tableau 13:** Corrélations entre les activités antioxydantes des brindilles de *Thymelaea hirsuta*.

	Chl ABTS	AE ABTS	n-But ABTS
Chl DPPH	0,98301214	-	-
AE DPPH	-	0,5848939	-
n-But DPPH	-	-	0,96840338

### 1. Corrélation entre les concentrations des extraits et l'activité antioxydante

**Tableau 14:** Corrélation entre les activités antioxydantes et les concentrations des extraits de *Thymelaea hirsuta* L.

	Chl Feuilles	Chl Fleurs	Chl Brindilles	AE Feuilles	AE Fleurs	AE Brindilles	n-But Feuilles	n-B Fleurs	n-But Brindilles
<b>DPPH</b>	0,99	0,98	0,87	0,99	1	0,98	0,97	0,95	0,99
<b>ABTS</b>	0,99	0,94	0,94	0,98	0,97	0,56	0,98	0,99	0,99

Hormis l'acétate d'éthyle brindille. De fortes corrélations entre les concentrations des extraits et les activités antioxydantes ont été observées, que se soit pour l'ABTS ou DPPH. La meilleure est celle obtenue entre les concentrations d'acétate d'éthyle des feuilles et les taux d'inhibition du radical DPPH ( $r=1$ ). Ce ci semble indiquer que les composés phénoliques sont responsable de la majorité de l'activité antioxydante montrée par *Thymelaea hirsuta*.

## Conclusion

La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux. Notre pays est doté d'une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales.

Ce travail a porté dans un premier temps à la quantification des composés phénoliques, qui caractérisent les fractions extraites par des solvants à polarités croissantes sur trois organes végétatifs de la partie aérienne de la plante *Thymelaea hirsuta*. Dans un deuxième, à la recherche d'activité biologique et les potentialités que peuvent avoir ces extraits, *in vitro*, à savoir les capacités antioxydantes.

Il a été noté une différence en matière de disponibilités en composés phénoliques. Cette variabilité est expliquée par le type de solvant employé et l'organe végétatif utilisé. En effet, le contenu en phénols est attribué à la polarité du solvant. Ce dernier influence positivement leur solubilité. L'acétate d'éthyle et le n-Butanol semblent être plus rentables pour l'extraction des composés phénoliques totaux, alors que les flavonoïdes et les flavonols sont davantage solubles dans l'acétate d'éthyle. Dans ces essais, les fleurs se sont montrées plus riches en composés phénoliques totaux, contrairement aux flavonoïdes et les flavonols qui sont plus abondants dans les feuilles.

Les capacités antioxydantes révélées *in vitro* sont en relation directe avec le contenu en métabolites secondaires de chaque fraction et dépendent de l'ensemble des substances antioxydantes, de leur nature, leur quantité, leur structure et de toutes les interactions moléculaires qui peuvent agir de façon synergique pour faire hausser cette activité. Cette étude suggère que les composés phénoliques sont les substances antioxydantes par excellence.

En fin, les antioxydants naturels de l'espèce *Thymelaea hirsuta* peuvent être très utiles pour renforcer l'organisme dans le cas de situation de stress oxydatif et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire. Les données peuvent, entre autre, justifier l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle, notamment dans le traitement des infections et les pathologies cutanées. Par ailleurs, Il serait nécessaire d'isoler et de caractériser les molécules potentiellement antioxydantes des fractions les plus actives, de déterminer la toxicité et de préciser les doses LD50 sur des modèles animaux.

## Références

- Azaizeh H., Fulder S., Khalil K., Said O.**, 2003. Ethnobotanical knowledge of local Arab practitioners in the Middle Eastern region. P: 74 :98–108
- Bellebcir L.**, 2008. Étude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. P:119.
- Bouakaz I.**, 2006. Étude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E.**, 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science 161. P: 839-851.
- Bruneton J.**, 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. Médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- Cavalier C., Dupriez C., Huret J., Ar Lauriane L., Nebon D., Mence L., Montard C., Morin C.**, 2014. La phytothérapie ou « l'art de soigner par les plantes ».
- Chen CN, Weng MS, Wu C, Lin Jk.**, 2004. Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanosoma cells. Food Chemistry, 1(2):175 185.
- Chevallier A.**, 2001. Larousse. Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition).
- Cowan MM.**, 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents clinical microbiology reviews. P: 564–582.
- Daayf F et Lattanzid V.**, 2008. Recent Advances in Poly phenol Research 1; Ed: Wiley-blackwell. P: 1- 24.
- Dacosta Y.**, 2003. Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques. Ed. Paris. P: 317.
- Delporte G., Mascolo N., Izzo A.**, 1999. Life. Scien. 65(4), 337-53.
- Diallo A.**, 2005. Étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, P:98.
- Favier A.**, 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. P: 108-117.
- Favier A.**, 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.

- Fleuriet A.**, 1982. Thèse de doctorat. Etat, Montpellier.
- Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK.**, 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Comp Anal*; 24: 1043- 1048.
- Ford RA., Hawkins DR., Mayo BC., Api AM.**, 2001. The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*. p:39, 153-162.
- Ghedadba N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S., Mouloud Y.**, 2014- Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*. Vol. (12). P: 15-24.
- Harborne JB.**, 1980. Plant Phenolics. *Encyclopedia of Plant Physiology, New series*. p: 8, 329-402
- Harinder PS., Makkar P., Becker.**, 2007. Plant secondary metabolites, Institute for Animal Production in the Tropics and Subtropics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. Ed *Humana Press*.
- Hartmann T.**, 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. P:68.
- Havsteen BH.**, 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*. P:96, 67– 202.
- Hoffman L.**, 2003. Étude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg. P:245.
- Iserin P.**, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed., 2, Larousse. p:1-14.
- Iz-Eddine El Amrani El Hassani & El Azhari H.**, 2009. Évaluation des propriétés physico-mécaniques des pierres de construction du Maroc à partir des vitesses des ondes P et de la résistance au choc, *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Terre, n°31, 41-54.
- Jeridane A., Yousfi M., Brunel JM., Stocker P.**, 2010- Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol*. Vol. (48): 2599– 606.

- Judd WS., Campbell CS., Kellogg EA., Stevens P.**, 2002. Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK. p:84-336.
- Kar A.**, 2007. Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: *New age international publishers*. P: 1-30.
- Kohen R., Nyska A.**, 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* P:30: 620-650.
- Krief S.**, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. P: 32.
- Mady P.**, 2013. Initiation à la phytothérapie *Guide pratique d'une herboriste ED. LIVRE*.
- Mohammedi Z.**, 2006. Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. P:155
- Mueller H et Allan M.**, 1992. **Bruneton J.**, 1999. **Bruneton J.**, 1993. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- Novelli GP.**, 1997. Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* P:48: 517-527.
- Papazian L., Roch A.**, 2008. Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, Edition Springer, P:153
- Poirier J.**, 2004. L'indispensable pour vivre en santé, *Edition Merlin*. P:720.
- Quezel P et Santa S.**, 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris. P:617-620.
- Sohal RS., Mockett RJ., Orr WC.**, 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol.* 33: 575-586.
- Teow CC., Truong VD., Feeter RF., Thompson RL., Pecota KV., Yencho GC.**, 2007. Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chem*; 103: 829-838.
- Tsimogiannins DI., Oreopoulou V.**, 2006. The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*. P: 7, 140-146.
- Walton NJ., Brown DE.**, 1999. Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: *WORLD SCIENTIFIC*. p: 1-14.

**Yao LH., Jiang YM., Shi J., Tomas-Barberan FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS., 2004.**

Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, P : 59: 113-122.

**Yusuf Y., 2006.** *Trends Food Sci. Tech.* P: 17, 64-71.