

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENAZZOUZ Nour El Houda

BENABDERRAHMANE Wafa

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUÉE

THÈME

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE
DES EXTRAITS DE FEUILLES D'*Aloe
vera*(L.) Burm ET DE *Solenostemma
argel*(Delile) Hayne**

Soutenu publiquement le **04/07/2017**

DEVANT LE JURY

Président	Djibaoui Rachid	Pr	U. Mostaganem
Examineur	BAHRI Fouad	Pr	U. Mostaganem
Encadreur	MEKHALDI Abdelkader	Pr	U. Mostaganem
Co-Encadreur	BESSEGHIER Djamel	Doctorant	U. Mostaganem

Année universitaire : 2016/2017

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques.

La présente étude porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique (E.Met) des feuilles de *Aloevera*(L.) Burm et de *Solenostemmaargel* (Delile) Hayne, deux plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les tests de diphényle-picrylhydrazyl(DPPH). Dans un premier temps, la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits a été effectuée.

Les résultats obtenus concernant le dosage quantitatif des polyphénols totaux et des flavonoïdes par méthode colorimétrique a permis de qualifier les feuilles d'*Aloevera* comme étant les plus riches en composés phénoliques dont la teneur (136.5 ± 0.042 mg/g), par contre, le gel d'*Aloevera* et les feuilles de *Solenostemmaargel* ont montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($512.4 \pm 0.066 - 467.6 \pm 0.119$ mg/g).

La méthode de l'évaluation de l'activité antioxydante montre que tous les extraits des plantes étudiées présentent des propriétés antioxydantes à différents niveaux. Le dosage spectrophotométrique par la réduction du DPPH a mis en évidence un extrait actif et qui présente la valeur d'IC50 la plus faible, c'est le cas de l'extrait méthanolique de gel d'*Aloevera* ($76.89 \mu\text{g/ml}$).

Mots clés : Polyphénols, Flavonoïdes, Pouvoir antioxydant, *Aloevera* – *Solenostemmaargel*

Abstract:

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which are assigned a variety of biological activities.

The present study examines the evaluation of the antioxidant activity of the methanolic extract of the leaves of *Aloe vera* (L.) Burm and *Solenostemmaargel*(Delile) Hayne, two medicinal plants of the traditional pharmacopoeia of Algeria.

Antioxidant activity was evaluated using diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH) tests. In a first step, the total polyphenol and flavonoid content of the extracts was carried out.

The results for the quantitative determination of total polyphenols and flavonoids by colorimetric method allowed to qualify the *Aloe vera* leaves as being the richest in phenolic compounds whose content (136.5 ± 0.042 mg / g) *Aloe vera* and *Solenostemmaargel* showed the highest content of flavonoids (512.4 ± 0.066 , 467.6 ± 0.119 mg / g).

The method of evaluating the antioxidant activity shows that all the extracts of the plants studied exhibit antioxidant properties at different levels. The spectrophotometric assay by reduction of DPPH revealed an active extract with the lowest IC50 value, the methanolic extract of *Aloe vera* gel ($76.89 \mu\text{g} / \text{ml}$).

Keywords: Polyphenols - Flavonoids -Antioxidant activity -*Aloe vera*- *Solenostemmaargel*

ملخص:

تحتوي المستخلصات الطبيعية النباتية على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية التي تتميز بأنشطة بيولوجية مختلفة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق كل من نباتي الصبار (*Aloe vera*) و الحرجل (*Solenostemmaargel*)، وهما نباتان طبيان يتم استعمالهما كأدوية تقليدية في الجزائر. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار ثنائي فينيل-بيكريل-هيدرازيل (DPPH). بعد أن تم - كخطوة أولى - تقدير محتوى المستخلصات النباتية لكل من: البوليفينول الكلي و الفلافونويدات.

وقد أظهرت نتائج التقدير الكمي للبوليفينول الكلي والفلافونويدات و ذلك باستخدام طريقة القياس اللوني مدى غنى أوراق الصبار بالمركبات الفينولية و التي وصل محتواها إلى 0.042 ± 136.5 ملغم / غو بالمقابل، كانت النتائج محسوسة بالنسبة للتقدير الكمي للفلافونويدات و ذلك على مستوى عصارة أوراق الصبار و مستخلص أوراق الحرجل كما توضحه القيم على التوالي: 0.066 ± 512.4 ، 0.119 ± 467.6 ملغ / غ).

بينت نتائج تقدير النشاط المضاد للأكسدة أن جميع المستخلصات النباتية لديها خصائص مضادة للأكسدة.

و قد أظهر الفحص الطيفي قدرة مستخلص عصارة أوراق الصبار على اقتناص الجذور الحرة حيث بلغت قيمة التركيز المشط لـ 50% (IC_{50}) من الجذر الحر (DPPH) و المعبر عن النشاط المضاد لهذا الأخير ما مقداره ($76.89 \mu\text{g} / \text{ml}$)

الكلمات المفتاحية: البوليفينول الكلي - الفلافونويدات - النشاط ضد الأكسدة - نبات الصبار - نبات الحرجل

Remerciement :

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent à Mr le docteur **Aeê MEKHALDI** (Université Abdelhamid Ibn Badis / Mostaganem), qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, en lui exprimons nos sentiments de reconnaissances les plus sincères pour son aide, ses encouragements et ses conseils.*

*Nos remerciement s'adresse au Mr **DJIBAOUI Rachid** d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.*

*Nous remercions Mr **BAHRI Fouad** d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

Figure 1 : photographie de plante d' <i>Aloe vera</i>	4
Figure 2 : Coupe transversale de feuille d' <i>Aloe vera</i>	4
Figure 3 : Photographie de la fleur d' <i>Aloe vera</i>	6
Figure 4: la plante <i>Solenostemma Argel</i>	10
Figure 5: Les principales jonctions entre métabolisme primaire et secondaire qui indiquent l'origine biosynthétique des métabolites secondaires	13
Figure 6 : Principaux acides hydroxycinnamique.....	14
Figure 7 : Principaux acides hydrox benzoïques.....	14
Figure 8 : Principaux types de coumarines.....	15
Figure 9: Structure générale des flavonoïdes.....	15
Figure 10: Classification des tanins.....	17
Figure 11: les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	19
Figure 12: La plante d' <i>Aloe vera</i>	21
Figure 13: La plante <i>Solenostemma Argel</i>	21
Figure 14 : Le gel d' <i>Aloe vera</i> avant (a) et après (b) séchage.....	22
Figure 15 : Dispositif de l'extraction sous reflux.....	22
Figure 16: Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction.....	23
Figure 17 : L'extrait végétal après séchage au Rota vapeur: a- <i>Aloe vera</i> , b- <i>Solenostemma Argel</i>	23
Figure 18 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	24
Figure 19: Spectrophotomètre utilisé pour la lecture d'absorbance.....	25
Figure 20: Les principales étapes du dosage des polyphénols.....	26
Figure 21 : Les principales étapes du dosage des flavonoïdes.....	27
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totaux réalisée à l'aide de l'acide gallique.....	29

Figure 23 : Histogramme représentant la quantité des polyphénols totaux des 3 extraits méthanolique exprimée en mg éq. A. gallique /g de matière sèche.....	30
Figure 24 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Catéchine.....	31
Figure 25 : Histogramme représentant les teneurs en flavonoïdes de 3 extraits, exprimés en mg éq Catéchine /g de matière sèche.....	32
Figure 26 : Histogramme représentent les valeurs d'IC50 des extraits étudiés	34
Figure 27 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en polyphénols totaux.....	35
Figure 28 : Comparaison entre IC50 et la teneur en polyphénols totaux des 03 extraits méthanolique.....	35
Figure 29 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en flavonoïdes.....	36
Figure 30 : Comparaison entre IC50 et la teneur en flavonoïdes des différents extraits actifs.	37

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Synthèse des deux principales classifications botaniques utilisées aujourd'hui...	6
Tableau 02 : Classification des flavonoïdes.....	16
Tableau 03 : Les valeurs des teneurs en polyphénols (mg éq. A. gallique /g) de 3 extraits méthanoïques étudiées.....	30
Tableau 04 : Les valeurs des teneurs en flavonoïdes (mg éq Catéchine /g) de 3 extraits méthanoïques étudiés.....	32
Tableau 5: Les valeurs d'IC50 de différents extraits actifs par rapport au témoin (antioxydants de référence).....	33

LISTE DES ABREVIATIONS :

DPPH :	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.
MéOH :	méthanol.
Na₂CO₃ :	carbonate de sodium.
NaOH :	hydroxyde de sodium.
NaNO₂ :	nitrite de sodium.
AlCl₃ :	trichlorure d'aluminium.
IC₅₀ :	concentration inhibitrice médiane.
Mg :	milligramme
µg :	microgramme
ml :	millilitre
g :	gramme
SOD :	superoxyde dismutase
ROS :	reactive oxygen species
R² :	coefficient de corrélation.
EAG/ g MS :	Equivalent Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
RAPPEL BOTANIQUE	
1. Présentation de la plante <i>Aloe vera</i> (L.) Burm.....	3
1.1. Description botanique de l' <i>Aloe vera</i>	3
1.2. Classification.....	6
1.3. Origine et distribution.....	7
1.4. Intérêt économique.....	7
1.5. Propriétés biologiques.....	8
2. Présentation de l'Argel (<i>Solenostemma Argel</i>) (Delile) Hayne.....	9
2.1. Description botanique de l'Argel	9
2.2. Classification	10
2.3. Origine et distribution	10
2.4. Propriétés biologiques	11
Les composés phénoliques	
1.1. Généralités.....	12
1.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	12
1.2.1. La voie de Shikimate.....	12
1.2.2. La voie des phénylpropanoïdes.....	12
1.2.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	12
1.3. Principales classes des polyphénols.....	13
1.3.1. Les acides phénoliques simples.....	13
1.3.1.1. Acides hydroxy cinnamiques.....	13
1.3.1.2. Acides hydrox benzoïques.....	14
1.3.1.3. Coumarines.....	14
1.4. Les flavonoïdes	15
1.4.1. Structure des flavonoïdes	15
1.4.2. Localisation et distribution.....	15
1.4.3. Classification des flavonoïdes	16
1.5. Les tanins.....	16
1.5.1. Classification des tanins.....	17

1.5.1.1.	Tanins hydrolysables.....	17
1.5.1.2.	Tanins condensés.....	17
2.	Activités biologiques	
2.1.	Activité antioxydante.....	18
2.1.1.	Définition d'un radical libre.....	18
2.1.2.	Les antioxydants.....	18
2.1.2.1.	Les antioxydants primaires.....	19
2.1.2.2.	Les antioxydants secondaires.....	19
2.1.3.	Mécanismes d'action des antioxydants.....	20

MATÉRIEL & METHODES

1.1.	Matériel végétal.....	21
1.2.	Méthodes.....	21
1.2.1.	Préparation des échantillons pour l'extraction	21
1.2.2.	Extraction sous reflux	22
1.3.	Dosage des composés phénoliques.....	24
1.3.1.	Principe	24
1.3.2.	Protocole	24
1.4.	Dosage des flavonoïdes	26
1.5.	Détermination de l'activité antioxydante par le test au DPPH	27
1.5.1.	Principe du test DPPH	27
1.5.2.	Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie	28

RESULTATS & DISCUSSION

1.	Détermination de la Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	29
1.1.	Teneurs en polyphénols	29
1.2.	Teneurs en flavonoïdes.....	31
2.	L'étude du pouvoir antioxydant.....	33
2.1.	Réduction du radical libre 2,2-diphény 1,1-picrylhydrazyl DPPH (dosage Spectrophotométrique).....	33

2.2. Corrélation entre l'activité antioxydante évaluée par DPPH et la teneur en polyphénols totaux des différents extraits testés	34
2.3. Corrélation entre l'activité antioxydante évaluée par DPPH et la teneur en flavonoïdes des différents extraits testés.....	36

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (LEVY, 1969)

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (MAJINDA *et al.*, 2001). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de certains composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. On distingue plusieurs groupes métabolites notamment les phénols (acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polypeptides (COWAN, 1999).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation (MAU, 2004).

Les antioxydants existent dans les plantes médicinales et alimentaires tels que les composés phénoliques, appartenant à la classe des composés dits de métabolisme secondaire manifestent un spectre de propriétés pharmacologiques telles que : antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatoires, anticancerigènes, antithrombique anti-atherogéniques et analgésique parmi tant d'autres. Ils exercent ces propriétés en tant qu'antioxydants (WOLLGAST & ANKLAM, 2000 ; GOMEZ-CARAVACA *et al.*, 2006).

Ce travail vise à étudier l'activité antioxydante des extraits bruts de deux plantes aromatiques, *Aloevera* (L.) Burm et de *Solenostemma argel* (Delile) Hayne qui appartiennent respectivement à la famille des Xanthorrhoeaceae et des Asclepiadaceae.

La sélection de ces plantes s'est fondée sur les critères suivants : sont parmi les plus populaires plantes médicinales utilisées, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle, elles représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Pour cela, le retour vers le naturel est devenu indispensable, et il s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle des différentes activités des extraits naturels.

Et dans ce cadre vient notre travail, qui est divisé en quatre chapitres : Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes, les polyphénols et le stress oxydant. Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes et nous terminerons avec le test de l'activité antioxydante des extraits méthanolique des deux espèces. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus avec une conclusion.

Chapitre 1

Rappel Botanique

1. Présentation de la plante *Aloevera*(L.) Burm

Il existe près de 420 espèces d'Aloès présentes dans le monde entier(DAGNE *et al.*,2000),mais seules quelques-unes sont utilisées dans la médecine traditionnelle car reconnues pour leurs vertus médicinales.

Citons les espèces actuellement utilisées :

- l'*Aloeferrox* Miller, communément appelé l'*Aloe* du Cap, *Aloe* rouge ou *Aloe* amer qui se rencontre à l'état sauvage dans les régions chaudes et désertiques du sud-africain,

- l'*Aloearborescens* Miller ou *Aloe* candélabre, originaire de l'Afrique Australe, qui pousse au Malawi, au Botswana, au Zimbabwe, au Mozambique, ainsi qu'en Afrique du Sud.

- l'*Aloesaponaria* qui pousse principalement en Afrique du Sud, au Botswana et au Zimbabwe.

- l'*Aloesuccotrina*, *Aloesoccotrin*, ou *Aloe* de Zanzibar qui provient de Socotra, une île de l'Océan Indien, située près de la Somalie et du Yémen.

- et bien sur l'*Aloevera*, qui est l'espèce que l'on retrouve dans la quasi-totalité des spécialités commercialisées. Il s'agit également de l'espèce la plus étudiée. Elle est originaire de l'Afrique du Sud et de l'Est, et a été introduite par la suite au nord de l'Afrique, dans la péninsule arabique, la Chine, les pays méditerranéens et les Antilles (HALLER, 1990).

Ces espèces ont toutes leurs propres propriétés thérapeutiques et, bien que très voisines, il est nécessaire de ne pas les confondre.

On pense aujourd'hui que le mot «aloès»est dérivé d'un ancien mot arabe «*alloeh*», qui signifie «substance amère qui brille», tandis que «*vera*» signifie «vrai» parce que depuis la nuit des temps(ARUNKUMAR *et al.*,2009).

1.1. Description botanique de l'*Aloevera* :

En raison des crêtes épineuses qui protègent la feuille souple, l'*Aloevera* est souvent prise pour un cactus. C'est en fait une plante vivace succulente, arborescente d'environ 80 à 100 cm de haut aux racines courtes et peu profondes (MICHAYEWICZ,2013).Sur la tige robuste, très courte et ligneuse, se dressent des feuilles charnues lisses de couleur verte, à section triangulaire, aux extrémités pointues (Fig. 1), dont les plus grandes atteignent 100 cm de long et 15 cm dans leur plus grande largeur, avec des bords munis d'épines jaune clair. La forme caractéristique des feuilles a valu à la plante le surnom de «langue de crocodile» (BOULLARD, 2001 ;MORIN, 2008), qui stockent l'eau, lui permettant ainsi de survivre à de longues périodes de sécheresse.



Figure 1: Photographie de plantée d'*Aloevera*(MICHAYEWICZ, 2013)

Ces fleurs, réparties sur une ou plusieurs hampes, ressemblent à des petites trompettes de couleur allant du blanc verdâtre au rouge, en passant par le jaune (*Aloevera*), et l'orange.

L'intérieur de la feuille de l'Aloès contient une gelée capable de stocker l'eau filtrée par les racines et les feuilles. Par une savante alchimie (le métabolisme), cette eau se transforme en ce gel amer et translucide si recherché pour ses propriétés médicinales. La coupe transversale d'une feuille permet de distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur: la cuticule, une couche épidermique chlorophyllienne, un derme cellulosique où circule une sève rouge(ou suc) brunâtre tirant sur le jaune (le "sang" de l'aloès), et enfin, au centre, une pulpe épaisse: parenchyme dans lequel l'eau est tenue sous la forme d'un mucilage visqueux incolore qui est le précieux gel utilisé pour ses salutaires vertus (**Fig. 2**). A l'heure actuelle, seule la feuille est utilisée, les autres parties telles que les racines et les fleurs ne présentent pas d'intérêt médical. (MICHAYEWICZ.N, 2013).

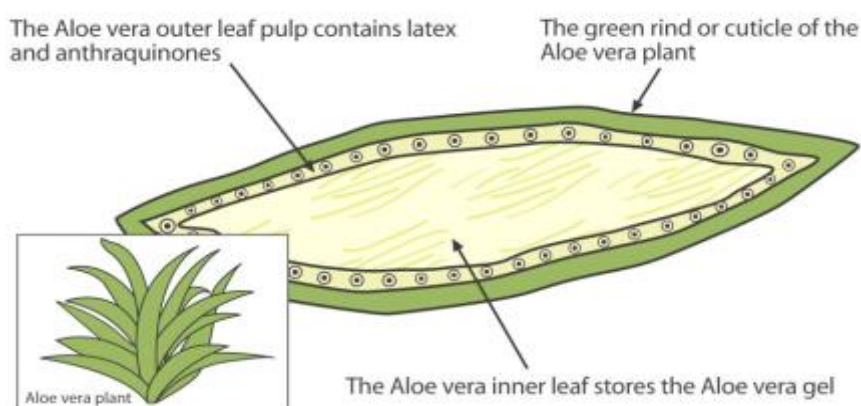


Figure 2 :Coupe transversale de feuille d'*Aloevera*

Le gel d'*Aloevera* est composé de tissu mucilagineux provenant du centre de la feuille, la couche la plus profonde et la plus active. Il contient plusieurs polysaccharides à une multitude d'applications médicinales (EDZARD&PITTLER, 2005). Les caractéristiques principales du gel sont : l'absence de couleur (transparent), l'absence d'odeur, son goût légèrement amer (MORIN,

2008), on le trouve dans toutes sortes de produits dermatologiques, shampoings, crèmes, dentifrices, cosmétiques... Pour un usage interne, on en trouve aussi sous forme de gélules ou dans des boissons. Ce gel remplit plusieurs fonctions : il sert de réserve de nourriture pour les longues périodes de sécheresse et contribue en même temps à une auto-guérison de la plante.

Le gel est la partie la plus importante, composée de plus de 99% d'eau (**TUCKER** *et al.*, 1989), le reste étant composé de plus de 200 éléments différents dont : les vitamines (**BRUNETON**, 1995), les minéraux et oligo-éléments les acides aminés, les enzymes, les stéroïdes : campestérol, lupéol et bêta-systostérol. (**DAVIS** *et al.*, 1994).

Le gel d'*Aloevera* possède un assortiment de propriétés pharmacologiques qui englobe les propriétés antivirales, antibactériennes, laxatives, anti-radiatives, anti oxydantes, anti inflammatoires, anti-cancéreuses, antidiabétiques, antiallergiques et immunostimulantes entre autres (**RODRIGUEZ** *et al.*, 2010).

L'inflorescence de l'*Aloevera* constituée de grappe dressée qui peut atteindre un mètre de haut et comporte de nombreuses fleurs entourées de bractées en forme de petites trompettes de couleur jaune (quelquefois orange), éclosent successivement (**Fig.3**). Le périanthe charnu, d'un jaune orangé, comporte six pièces d'environ 2,5 cm de long, soudées en tube à la base. Il y a six étamines un peu plus longues que le périanthe, entourant l'ovaire libre à trois loges qui donne une capsule loculicidé (se dit de l'ouverture d'une capsule par la rupture longitudinale de la nervure médiane des carpelles), renfermant de nombreuses graines à albumen charnu. Les graines, d'environ 7mm, sont brunes foncées, ailées (**PERROT**, 1971).



Figure 3 : Photographie de la fleur d'*Aloevera*

1.2. Classification :

L'*Aloevera*(L.) Burm, ainsi nommé et décrit par Linné est également connu sous le nom d'*Aloebarbadensis* Miller ou *Aloevulgaris*Lamarck(**BARCROFT**, 1998). Aujourd'hui, la

classification botanique officielle a retenu le nom d'*Aloebarbadensis* Miller, mais *Aloevera* reste l'appellation courante, que nous adopterons tout au long de notre mémoire.

En parcourant la littérature botanique et scientifique, on remarque que l'*Aloevera* est une plante classée dans deux familles différentes : *Aloécées* et *Xanthorrhoeacées*. Cette dernière est celle que l'on rencontre le plus souvent.

Ceci s'explique par les deux systèmes de classification qui coexistent (**Tab. 1**):

Tableau 1: Synthèse des deux principales classifications botaniques utilisées aujourd'hui (MICHAYEWICZ, 2013).

Classification Conquist	Classification APG III
Règne : <i>Plantae</i>	Clade : Angiospermes
Division : Magnoliophyta	Clade : Monocotylédones
Classe : Liliopsida	Ordre : Asparagales
Sous classe : <i>Liliidae</i>	Famille : Xanthorrhoeaceae
Ordre : Liliales	Sous famille : <i>Asphodeloideae</i>
Famille : Aloeaceae	
Genre : <i>Aloe</i>	
Espèce : <i>vera</i>	

1.3. Origine et distribution:

Aloevera est originaire de l'Afrique du nord, la région méditerranéenne de l'Europe du sud et à l'île des Canaries. Il est maintenant cultivé dans l'ensemble des Antilles, les régions tropicales ou subtropicales et les régions plus chaudes du monde, notamment en Asie, les Bahamas, la centrale Amérique, le Mexique, le sud des États-Unis d'Amérique, au sud-est de l'Asie. (LORENZETTI *et al.*, 1964).

A l'état naturel, l'*Aloevera* pousse sur des terrains sablonneux ou limoneux et calcaires de régions semi-désertiques au climat chaud et sec, et peut pousser dans des sols pauvres en éléments nutritifs, mais il prospère sur les sols riches. Il est tolérant à la salinité, Il peut très bien survivre à la sécheresse. L'*Aloevera* n'est pas très résistant au gel mais survivra à une température de -3°C , avec peu de dégâts (SCHMELZER *et al.*, 2008).

1.4. Intérêt économique :

L'*Aloevera* est une des plantes médicinales les plus connues. Son usage remonte à plus de 5000 ans. Plusieurs traces de cette plante ont été retrouvées dans de nombreuses civilisations (Chinoise, Egyptienne, peuples méditerranéens, Grèce antique...)(**YOUNGKEN**, 1950).*Aloevera* est l'espèce d'aloès la plus commercialisée et la transformation de la pulpe de feuilles est devenue une grande industrie mondiale(**LIU**, 2000).

Dans l'industrie alimentaire, elle a été utilisée comme source d'aliments fonctionnels et comme ingrédient dans d'autres produits alimentaires, pour la production de boissons et de boissons contenant du gel. Dans l'industrie cosmétique et de toilette, il a été utilisé comme matériau de base pour la production de crèmes, lotions, savons, shampooings, nettoyants pour le visage et autres produits pour soigner les brûlures, les coups de soleil, la cicatrisation des plaies et la lutte contre le vieillissement des cellules...etc.. Dans l'industrie pharmaceutique, il a été utilisé pour la fabrication de produits topiques tels que des onguents et des préparations en gel, ainsi que dans la production de comprimés et de capsules(**HERRAIZ et al.**, 2004).

Des propriétés pharmaceutiques importantes qui ont été récemment découvertes à la fois pour le gel de l'*Aloevera* et l'extrait de feuilles entières comprennent la capacité d'améliorer la biodisponibilité de vitamines Co-administrées chez des sujets humains(**AZAM et al.**,2003).

En raison de ses effets d'amélioration de l'absorption, ce gel peut être employé pour délivrer efficacement des médicaments peu absorbables par voie orale d'administration de médicament. Les scientifiques lui ont rapporté certaines vertus médicinales très particulières dans l'assainissement de la flore intestinale, le combat de la constipation, le renforcement du système immunitaire et l'amélioration de la circulation sanguine. Son usage est donc très large, même si l'*Aloevera* garde des atouts bien spécifiques sur la peau (**DEUTSCHES**, 1996).

1.5. Propriétés biologiques :

Une étude a montré le potentiel antioxydant intéressant de l'extrait d'*Aloevera* grâce à la présence de nombreux polysaccharides, phénol et flavonoïdes. La capacité antioxydante d'*Aloe Vera* a été évaluée pour son pouvoir réducteur ferrique, sa capacité de piégeage d'hydrate de 2,2-diphényl 1,1-picrylhydrazyl (DPPH), son pouvoir de piégeage d'oxyde nitrique et de glucose et son activité inhibitrice de xanthine oxydase.

Un extrait de plante d'*Aloevera* âgé de 3 ans a montré la plus puissante activité antiradicalaire (72,19 %) par rapport au BHT (butyle d'hydroxytoluène, puissant antioxydant synthétique) (70,52 %) et à l' α -tocophérol (65,65 %). Il a donc été supposé que l'âge de la plante joue un rôle important dans sa composition et son pouvoir antioxydant (**HU ; XU and HU**, 2003). L'activité antiradicalaire serait liée à l'activité antioxydante du glutathion, de certains composés phénoliques, et d'une enzyme le superoxydedismutase. (**KHAN et al.**,2010)

2. Présentation de l'Argel (*Solenostemmaargel*) (Delile) Hayne:

SolenostemmaArgel est une plante de la famille **Apocynaceae** qui regroupe 355 genres et environ 3700 espèces, on les retrouve essentiellement dans les régions tropicales et subtropicales (ENDRESS et BRUYNS, 2000), mais quelques espèces sont aussi présentes en zones tempérées. Les principaux genres sont *Asclepias* (230 sp.), *Tabernaemontana* (230 sp.), *Cynanchum* (200 sp.), *Ceropegia* (150 sp.) et *Hoya* (150 sp.).

Les Apocynacées représentent une famille cosmopolite, pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes.

Les [feuilles](#) sont utilisées dans la [médecine à base de plantes](#) pour le traitement de certaines maladies telles que du foie, des reins et des allergies. Il est un remède efficace pour la bronchite et est utilisé pour traiter les névralgies et sciatiques (SHAYOUB, 2003). Il est utilisé comme encens dans le traitement de la rougeole et parfois écrasé et utilisé comme remède pour les plaies suppurantes. Les feuilles sont infusées pour traiter les crampes gastro-intestinales, maux d'estomac, les coliques, les infections des voies urinaires et froides et est efficace comme un anti-syphilitique si elle est utilisée pendant des périodes prolongées de 40-80 jours (WHO, 2002; MCNTYRES, 2003). Les feuilles possèdent des propriétés purgatives qui peuvent être dues au présent latex dans les tiges. Plusieurs composés actifs ont été extraits de *Solenostemma*.

2.1. Description botanique de l'Argel :

Arbrisseau buissonnant vivace à feuilles persistantes à plusieurs branches qui s'étend jusqu'à 1 m de haut et jusqu'à 10 mètres de diamètre. Les brindilles sont minces, érigées et vert-grisâtre.

Les feuilles sont opposées, en forme de lance, et les paires de feuilles successives sont perpendiculaires. Les fleurs blanches poussent dans des grappes denses. Les fruits, sortes de gros follicules sont de couleur vert violacé, ovale et d'environ 5 cm de long. (EI-KAMALI, 2001).

2.2. Classification :

Selon BURKILL (1985), la classification d'Argel, *Solenostemmaargel* (Delile) Hayne est comme suit :

Règne: Plantae

Division: Angiospermes

Classe: Eudicots
Ordre: Gentianales
Famille: Asclepiadaceae
Genre: *Solenostemma*
Espèce: *argel*



Figure 4 : La plante *Solenostemmaargel*

2.3. Origine et distribution

Solenostemmaargel (Del) Hayne est connu localement au Soudan comme "hargal"(نبات الحرجل), et appartient à la famille *Asclepiadaceae* qui comprend d'autres espèces telles que :*S. oleifolium* (Nectoux) Bullocket Bruce et *S. Triste* (Nees) K. Muelli. C'est une plante Arbuste atteignant une hauteur de 60 à 100 cm, avec de nombreuses branches veloutées et pubescentes de la base. Cette plante est largement répartie en Arabie Saoudite, en Égypte, en Libye, au Tchad, au Hoggar (Algérie) et en Palestine(ELKAMALI, 1991).

Propriétés biologiques :

Une plante herbacée connue pour les propriétés curatives (DALZIEL, 1937) est utilisée comme :

- dans la région aérienne du **Niger**, pour nettoyer les plaies sur les chameaux après quoi un pansement des feuilles en poudre séchées est appliquée
- Chez Tibesti au **Tchad**, les feuilles sont bouillies pour faire une sorte de thé qui est pris avec du sucre.

- Chez les habitants du **Hoggar**, une infusion de feuilles est prise pour les rhumatismes, la blennorrhée et l'hémoptysie. Pour ces derniers, les feuilles en poudre séchées sont bouillies dans du lait, Sucré avec des dattes ou du sucre et la perfusion a bu chaud elle se boit pour traiter les rhumatismes, la gonorrhée et l'hémoptysie Cela favorise aussi la diurèse en faisant en sorte que le patient boit beaucoup d'eau.
- Le natif du **Soudan** a souvent utilisé pour supprimer la douleur de l'estomac, des douleurs dues à l'accouchement, et la perte d'appétit.
- Au **Liban**, des feuilles séchées sont importées, et bouillies dans l'huile d'olive. Ce liquide est utilisé en frottement contre les rhumatismes.
- En **Egypte**, les feuilles seraient utilisées comme le henné
- Elle est utilisé pour le traitement de problèmes de foie et élargissement rate, il est considéré comme efficace pour traitement maladies du foie et rate hyper trophée.
- la recherche a prouvé que l'Argel a un impact réel sur le travail de pancréas et régule l'insuline. L'infusion des parties aériennes traite le diabète
- La recherche a prouvé que la plante est efficace dans le traitement de la rougeole. La plante est brûlée et la fumée est inhalée pour traiter la rougeole.
- Elle est utilisé dans le traitement du rhume et grippe qui se produisent fréquemment pendant hiver, elle se boit en tisane pour soigner le rhume ou par inhalation des plantes résultant combustion Argel fumée.
- Les études ont prouvé que la plante Argel contient 50 composé actif qui peut être utilisé dans le traitement de nombreuses maladies telles que le traitement des convulsions neurologiques et l'arrêter de la croissance des cellules de cancer, comme le cancer d'estomac

Des branches feuillées sont jetées dans les ruisseaux et les étangs pour tuer les insectes et comme désinfectant.

Chapitre 2

Les composés phénoliques & Activités biologiques

1.1 Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (URQUIAGA et LEIGHTON, 2000).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (MACHEIX *et al.*, 2005).

1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

1.2.1. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques (**Fig.5**), elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (YAO *et al.*, 1995).

1.2.2. La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose.

1.2.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base. L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalconesynthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA.

Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (BRUNETON, 1999).

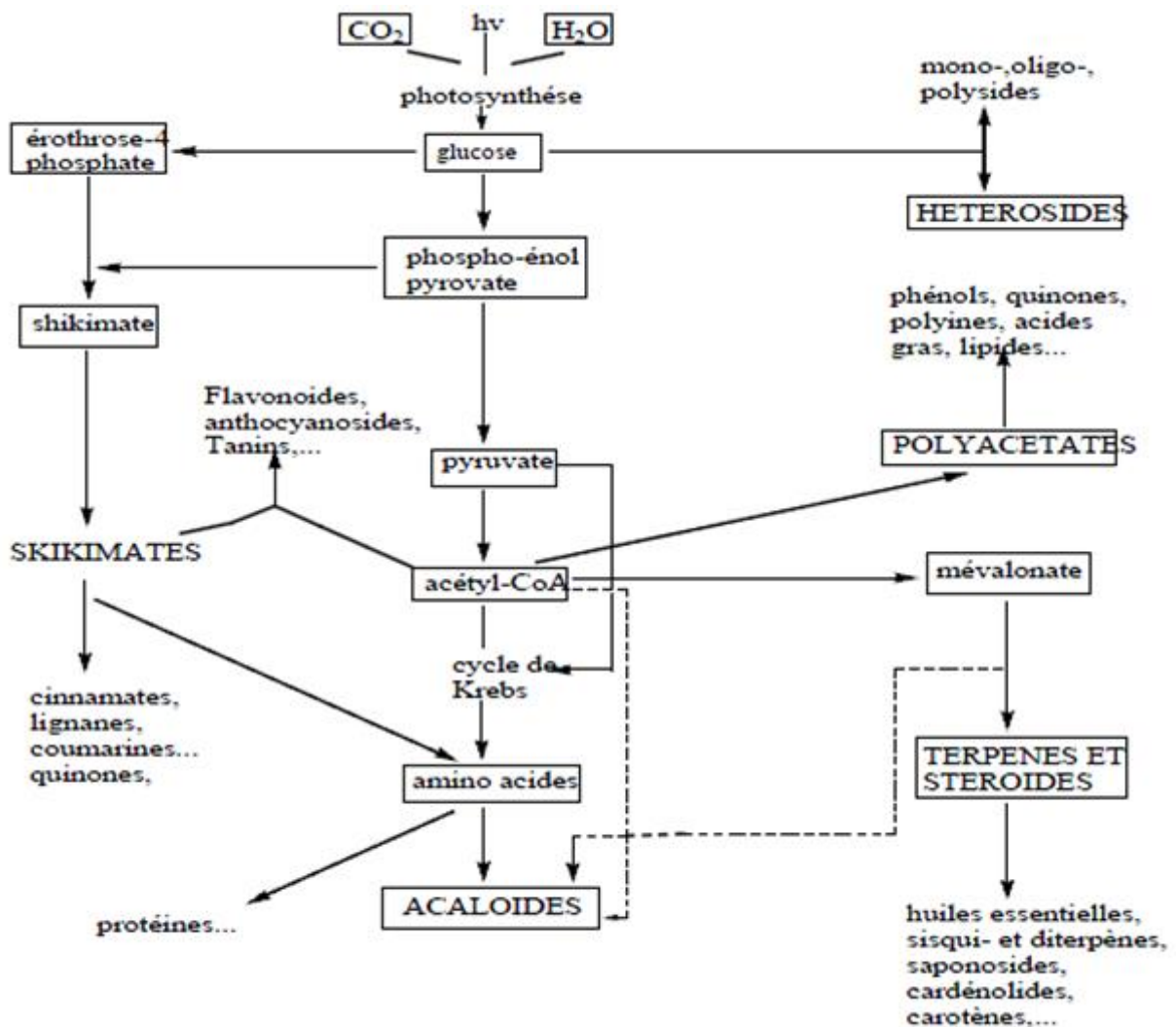


Figure 5: Les principales jonctions entre métabolisme primaire et secondaire qui indiquent l'origine biosynthétique des métabolites secondaires (BRUNETON, 1999).

1.3. Principales classes des polyphénols

1.3.1. Les acides phénoliques simples

1.3.1.1. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (Fig. 6).

1.3.1.2. Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la **figure 7**.

1.3.1.3. Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (**Fig. 8**).

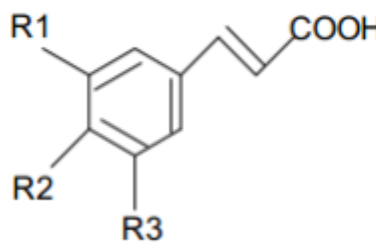
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure 6: Principaux acides hydroxycinnamiques (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

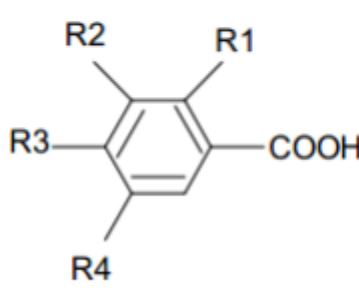
	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	OH	Acide gentisique	

Figure 7 : Principaux acides hydroxybenzoïques (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

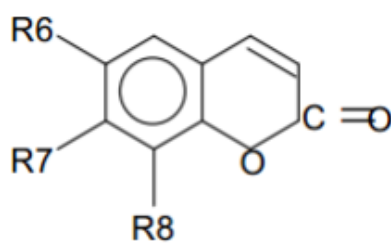
	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

Figure 8 : Principaux types de coumarines (MACHEIX *et al.*, 2005).

1.4. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont un groupe des polyphénols et sont caractérisés par une structure de diphenyl propane. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes(GUIGNARD, 1996). Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques(GARCIA-CLOSAS *et al.*, 1999).

1.4.1. Structure des flavonoïdes :

Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atome de carbone (C6-C3-C6) constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (Fig.9).

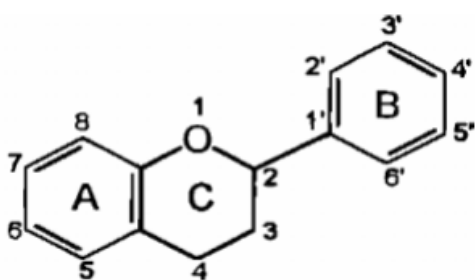


Figure 9: Structure générale des flavonoïdes(DI CARLO *et al.*, 1999).

1.4.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (MEDIC *et al.*, 2003). Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accablent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (BRUNETON, 1999).

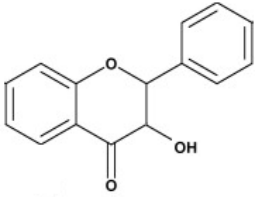
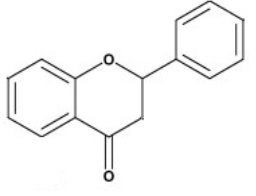
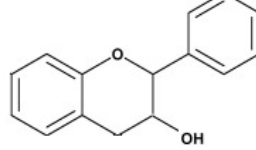
1.4.3. Classification des flavonoïdes :

Les flavonoïdes possèdent la structure de flavane qui a 3 cycles dont un hétérocycle a une configuration variée permet une classification en sous-groupes.

Les flavonoïdes sont classés en : flavonols, flavones, flavonones et anthocyanines (Tab. 2).

Tableau 2 : Classification des flavonoïdes (ALEJANDRO *et al.*, 2013).

Nom	Structure	description	Membre de famille
Flavonones		Un groupe carbonyle en position 4 et un groupe -OH en position 3 de l'anneau C	Quercétine, myricétine, isorhamnetine, kaempferol, pachypoda, rhamnose

flavonols		Avec un groupe -OH en position 3 de l'anneau C	Les catéchines, le gallate d'épigallocatechine, l'épicatéchine, le gallate d'épicatéchine
Flavones		Ont un groupe carbonyle en position 4 de la couronne C et manquant du groupe hydroxyle en position C3	Apigénine, nobiletin, tangerétine, lutéoline
Anthocyanidins		Un groupe carbonyle en position 4 et un groupe -OH en position 3 de l'anneau C	Cyanidine, delphinidine, peonidine, malvidine, pélargonidine

1.5 Les tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène de composés phénoliques de haut poids moléculaire et ont la capacité de former des complexes réversibles et irréversibles avec des protéines (principalement), des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectine, etc.), des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux (SCHOFIELD *et al.*, 2001).

1.5.1. Classification des tanins

En général, les tanins sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (KHABABAEE andREE, 2001).

1.5.1.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont, en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotanins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitanins) (Fig. 10). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique; ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et d'eau chaude (DONATIEN, 2009).

1.5.1.2 Tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées (DONATIEN, 2009). Ils sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavonoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse. Les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines (à partir de procyanidines) et les delphinidines (KHABABAE and REE, 2001).

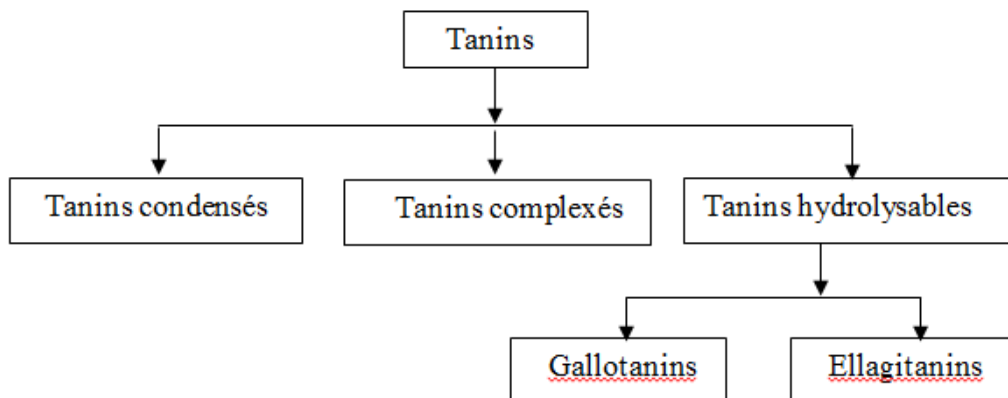


Figure 10 : Classification des tanins (KHABABAE and REE, 2001).

2. Activités biologiques

2.1. 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).

2.1.1. 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 réappairer, 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 (radicalperoxyde ROO[•], radical alkoxyde RO[•]), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**NOVELLI**, 1997).

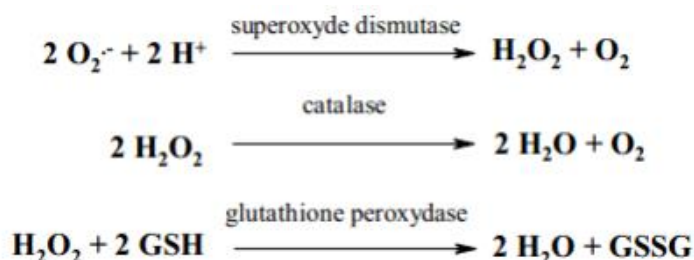
L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde O₂^{•-}, radical hydroxyl OH[•], monoxyde d'azote NO[•], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet¹O₂, peroxyde d'hydrogène H₂O₂, peroxyde d'azote ONOO⁻ (**FAVIER**, 2003).

2.1.2. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**PARK***et al.*, 2001).

2.1.2.1. Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**FAVIER**, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**DACOSTA**, 2003).

2.1.2.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Fig. 11**) (**DACOSTA**, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (**KOHEN** et **NYSKA**, 2002).

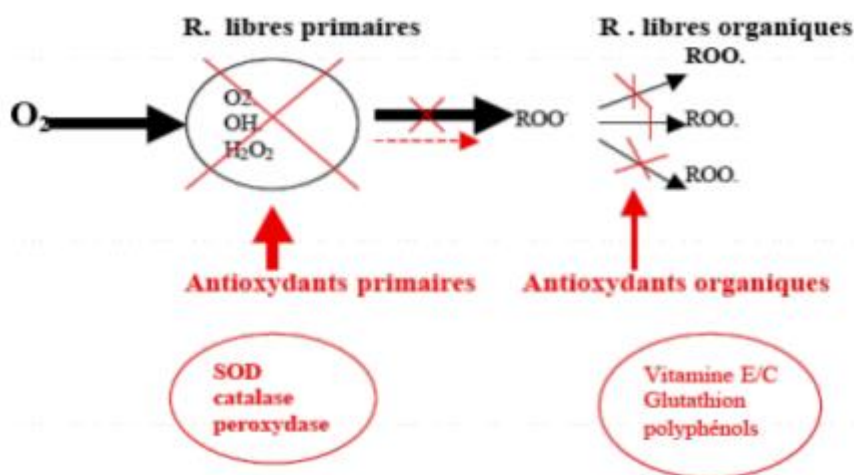


Figure 11 : les systèmes de défense contre les radicaux libres (**KOHEN** et **NYSKA**, 2002).

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 antioxydantes 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 antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique) 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).

2.1.3. 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).

MATERIEL & METHODES

1. Matériel et Méthodes

Ce travail a été effectué au laboratoire de biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

1.1. Matériel végétal :

- Notre étude apportée sur deux espèces de plantes. La plante: *Aloe Vera* (**Fig. 12**) et *Solenostemmaargel* (**Fig. 13**), la première a été récoltée au mois d'avril 2017 de la cité Zaghloul (wilaya de Mostaganem) et la deuxième a été récoltée au mois de Juin 2016 de la région du Hoggar.



Figure 12: La plante d'*Aloevera* **Figure 13:** La plante *Solenostemmaargel*

1.2. Méthodes:

1.2.1. Préparation des échantillons pour l'extraction :

Les feuilles des deux plantes étudiées (*Aloevera* + *Solenostemmaargel*) ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière, ont été ensuite, finement broyées à l'aide d'un broyeur. Les poudres des échantillons préparés sont conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

Le gel d'*Aloevera* a été lyophilisé afin d'obtenir sous forme poudre en utilisant un lyophilisateur (**Fig. 14**).

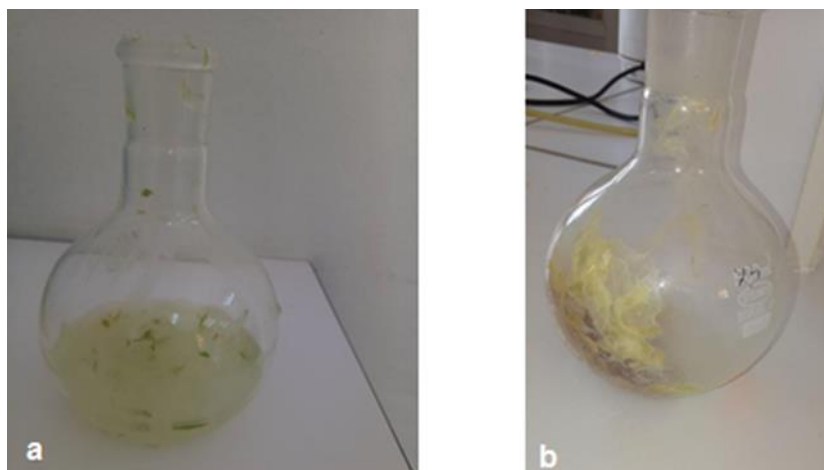


Figure 14 : Le gel d'Aloevera avant (a) et après (b) séchage

1.2.2 Extraction sous reflux :

Le solvant d'extraction utilisé est le Méthanol. Les études précédentes montrent que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (**SAHREEN** et al. 2010; **XIA** et al. 2010; **BOUZID** et al., 2011) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (**BARROS** et al., 2010).

La poudre végétale est introduite dans un ballon à col rodé de 250 ml, puis extraite sous reflux (**Fig. 15**) dans le méthanol (10 %). Chaque échantillon a subi trois extractions successives ce qui permet d'extraire le maximum des composés chimiques les plus polaires. Après chaque étape, l'extrait est refroidi puis filtré sur papier filtre.

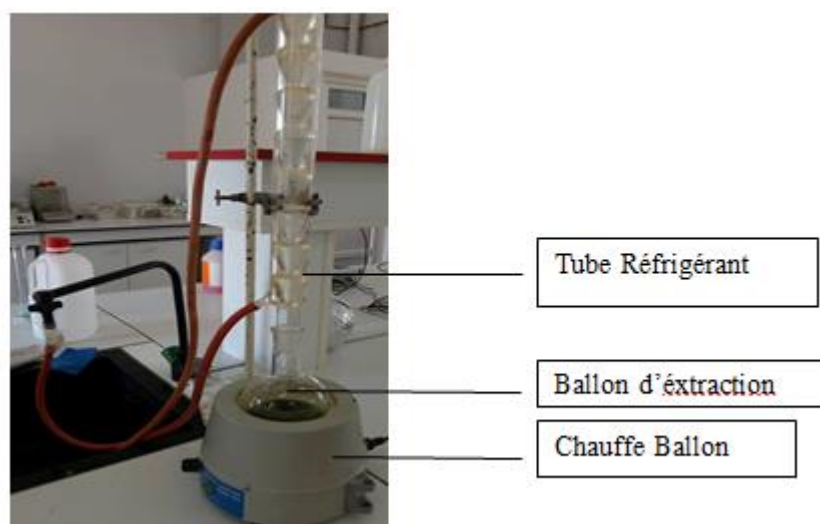


Figure 15 : Dispositif de l'extraction sous reflux.

Les extraits sont ensuite, concentrés et séchés à l'aide d'un Rota vapeur (**Fig. 16**) afin d'éliminer toute trace de Méthanol, pour obtenir une poudre végétale sèche.



Figure 16 : Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction

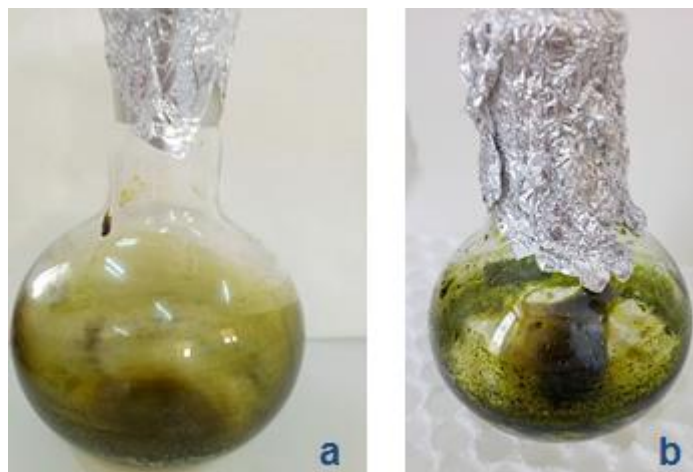


Figure 17: L'extrait végétal après séchage au Rotavapeur: a- *Aloevera*, b- *Solenostemmaargel*

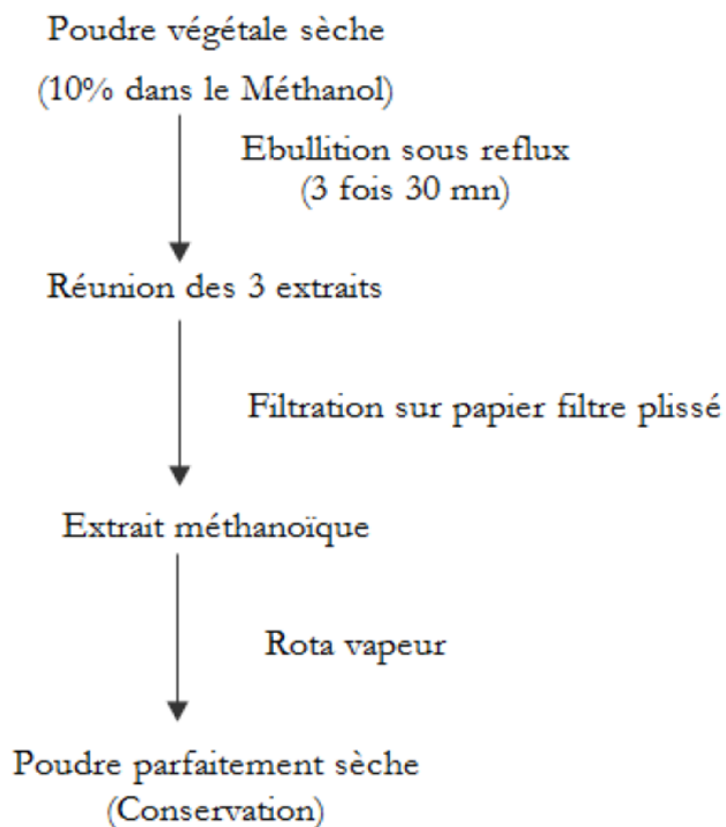


Figure 18: Protocole d'extraction des composés phénoliques

1.3. Dosage des composés phénoliques

1.3.1. Principe :

Le dosage des polyphénols est réalisé à l'aide du réactif de «Folin-Ciocalteu» (WATERHOUSE, 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

1.3.2. Protocole :

Dans un tube à essai introduire,

- 100µl d'extrait méthanolique (dissous dans le MéOH à une concentration de 2 mg/ml) 500 µL de FolinCiocalteu (merck)(1/10 dissout dans l'eau distillée), on agite et on laisse à l'obscurité pendant 5min à la température ambiante.
- ensuite on ajoute 1,5 ml d'une solution de Na₂CO₃ saturée à l'ensemble (2% dissout dans l'H₂O), on agite encore et on laisse à l'obscurité pendant une heure à la température ambiante.

- L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc au spectrophotomètre UV –Visible (JENWAY) (**Fig. 19**).



Figure 19 : Spectrophotomètre utilisé pour la lecture d'absorbance

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique à des concentrations variables de (0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1mg/ml), à partir d'une solution mère d'acide gallique de 1mg/ml dissout dans l'eau distillée. Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Les teneurs en polyphénols sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec de la matière séchée.

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par le méthanol.

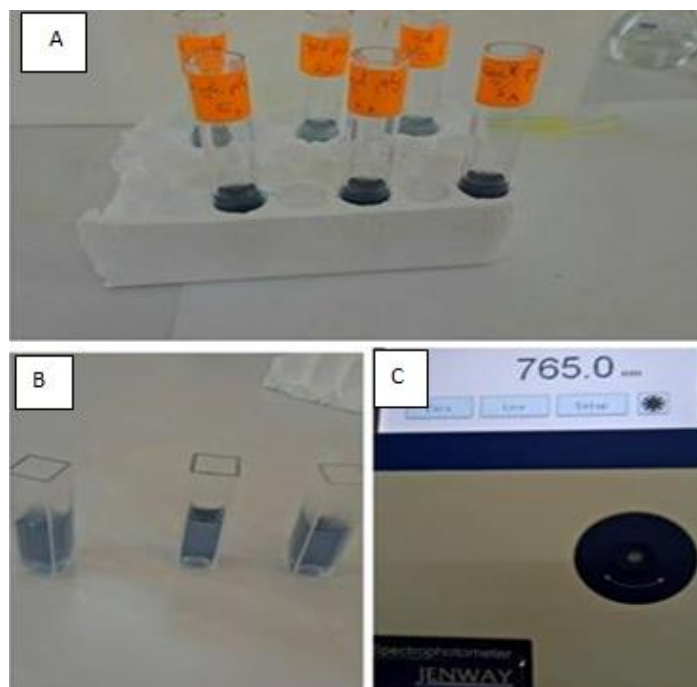


Figure 20 : Les principales étapes du dosage des polyphénols

A : L'extrait+ Folin-Ciocalteu+Na₂CO₃.

B :Le mélange prêt pour la lecture.

C : La lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 765 nm.

1.4. Dosage des flavonoïdes :

L'analyse quantitative des flavonoïdes est réalisée par le dosage spectrophotométrique selon la méthode directe par (KIM *et al.*, 2003). Dans des tubes à essai :

- on mélange 500 µl de l'extrait méthanolique (dissous dans le MéOH, à une concentration de 2 mg/ml) à un volume de 1500 µl d'eau distillée,
- à t = 0 min on ajoute 150 µl d'une solution de NaNO₂ à 5% (dissout dans l'eau distillée),
- à t = 5 min on ajoute 150 µl d'une solution de AlCl₃ à 10% (dissout dans l'eau distillée),
- à t = 11 min on ajoute 500 µl de NaOH 1M (dissout dans l'eau distillée), puis on mélange au vortex.
- L'absorbance est mesurée à 510 nm contre un blanc au spectrophotomètre UV –Visible (JENWAY).

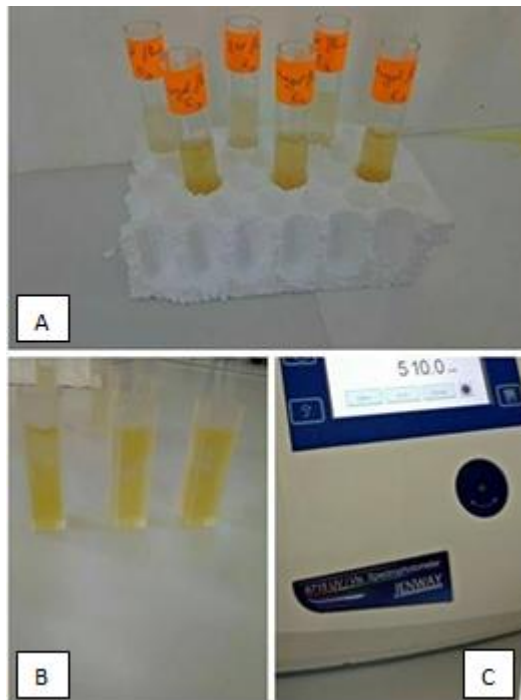


Figure 21 : Les principales étapes du dosage des flavonoïdes.

A :L'extrait+NaNO₂+AlCl₃+NaOH.

B :Le mélange prêt pour la lecture.

C :lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 510 nm

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant la Catéchine des concentrations variables de (0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1mg/ml), à partir d'une solution mère de Catéchine de 1mg/ml dissout dans le méthanol. Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimés en milligramme d'équivalent de la Catéchine par gramme de l'extrait.

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par le méthanol.

1.5 Détermination de l'activité antioxydante par le test au DPPH :

1.5.1 Principe du test DPPH :

Le test DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle) a été utilisé par **BLOIS (1958)**, ce test consiste en la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H. En effet, la présence des radicaux DPPH donne une coloration pourpre foncée à la solution et qui absorbe fortement à 517 nm. Au cours de la réaction, la colorimétrie de la solution change sous l'effet d'un agent antioxydant qui entraîne la décoloration de la solution.

1.5.2 Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie :

Le test dosage spectrophotométrie est effectué selon les étapes suivantes :

- **préparation de la solution de DPPH :**

Le DPPH a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution d'une concentration de $6 \cdot 10^{-5}$ M.

- **Préparation des extraits :**

Les extraits dissous dans le méthanol à une concentration de 2mg/ml, ont été dilués à différentes concentrations croissantes (10-20-30-40-50 µg/ml).

- **Détermination du potentiel antioxydant :**

La détermination du pouvoir antioxydant est basée sur la réaction entre l'oxydant qui le DPPH et l'antioxydant contenu dans l'extrait. A 1950 µl de la solution du DPPH à $6 \cdot 10^{-5}$ M (préparé dans du méthanol), on ajoute 50 µl de l'échantillon à étudier (l'antioxydant de référence ou l'extrait méthanolique) préalablement solubilisé dans le méthanol. La variation de l'absorption est suivie en fonction du temps.

Le spectrophotomètre est calibré à l'aide d'un blanc constitué de méthanol pur à une longueur d'onde de 517 nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif.

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{IP} = \frac{(\text{A témoin (-)} - \text{A témoin extrait})}{\text{A témoin (-)}} \times 100$$

Où **A témoin (-)** : Absorbance du témoin négatif ; ce dernier contient du DPPH et du méthanol au lieu de l'extrait.

A extrait : Absorbance en présence de l'extrait.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures \pm standard de déviation. Le pourcentage d'inhibition est finalement exprimé sous forme d'**IC50** qui est par définition, la concentration de l'antioxydant (extrait) qui peut réduire 50% du DPPH (exprimée en mg de substrat/g de DPPH), celle-ci est calculée à partir d'une droite de régression établie à l'aide de pourcentage d'inhibition (IP) enregistré en fonction de la concentration de l'extrait

Résultats et Discussion

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles et gel d'*Aloevera* et les feuilles de *Solenostemma argel*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que ces molécules sont responsables de la majorité des propriétés antioxydantes des plantes.

2. Détermination de la Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes :

L'étude quantitative des extraits bruts qui ont montrés une activité antioxydante au moyen des dosages spectrophotométrique, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Deux courbes d'étalonnage ont été tracées pour cet objectif : la première réalisée avec l'acide gallique (pour les polyphénols totaux) à différentes concentrations, l'autre avec la catechine (pour les flavonoïdes).

Des mesures de densité optique de différentes plantes testées sont réalisées à 765 nm pour les polyphénols et à 510 nm pour les flavonoïdes. Les quantités des polyphénols totaux et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg d'équivalent de l'étalon utilisé par g de poudre des extraits méthanoliques, déterminées par les équations de régression de type:

$$y = ax + b$$

2.1. teneur en polyphénols :

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait de plante a été alors déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = 45.714x + 0.0086$) et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (**Fig. 22**).

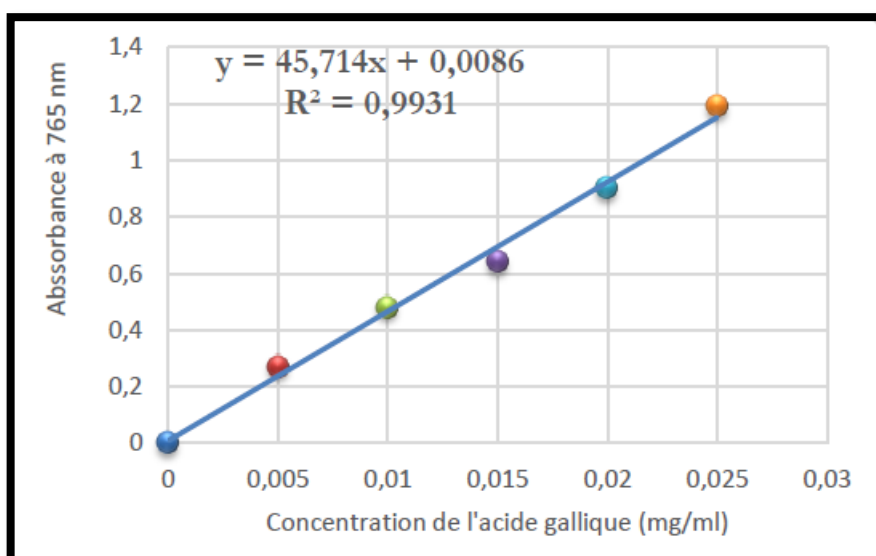


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totaux réalisée à l'aide de l'acide gallique

Selon la figure 23 et le tableau 3, Les teneurs en polyphénols enregistrées, montrent des quantités de $(10.50 \pm 0.02 - 136.50 \pm 0.04 - 52.50 \pm 0.01 \text{mg/g})$ pour *Solenostemmaargel*(feuilles);*Aloevera* (feuilles et gel)respectivement :

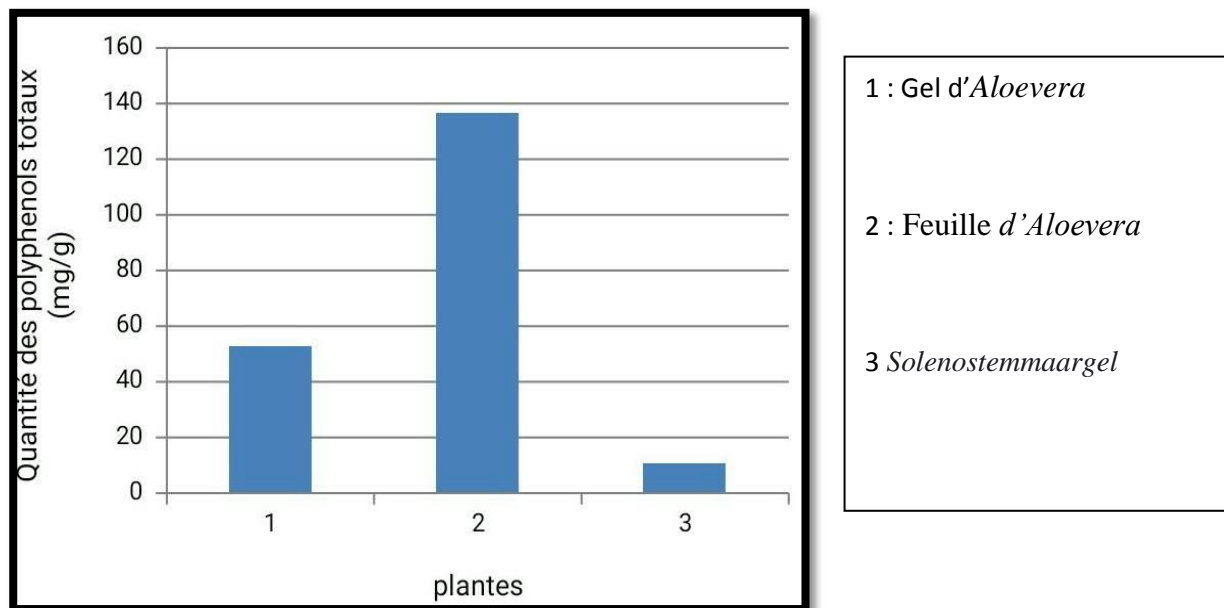


Figure 23 : Histogramme représentant la quantité des polyphénols totaux des 3 extraits méthanoliques exprimée en mg éq. A. gallique /g de matière sèche.

L'extrait de feuilles d'*Aloevera* présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ($136.50 \pm 0.04 \text{mg/g}$), suivi par l'extrait de gel de la même plante *Aloevera* qui contient aussi une quantité considérable des polyphénols ($52.50 \pm 0.01 \text{mg/g}$), par contre la plus faible quantité a été enregistrée chez *Solenostemmaargel* avec une valeur de $(10.50 \pm 0.02 \text{ mg/g})$ (**Tab.3**).

Tableau 3: Les valeurs des teneurs en polyphénols (mg éq. A. gallique /g) de 3 extraits méthanoliques étudiées.

Plantes	Teneur en polyphénols (mg/g)
Gel d' <i>Aloevera</i>	52.50 ± 0.01
Feuilles d' <i>Aloevera</i>	136.50 ± 0.04
Feuilles de <i>Solenostemmaargel</i>	10.50 ± 0.02

Selon les résultats illustrés ci-dessus, on distingue que l'*Aloevera* est riche en polyphénols totaux par rapport à *Solenostemmaargel* qui a présenté la teneur la plus faible.

En effet, la teneur des polyphénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre, ce qui est le cas dans notre étude concernant les deux plantes (**MILIAUSKAS et al., 2004**).

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

- 1- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (**EBRAHIMI et al.**,2008).
- 2- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (**MILIAUSKAS et al.**,2004).
- 3- La méthode d'extraction et celle de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**LEE et al.**,2003).

Il a été prouvé que les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre (**TIM**, 2005).

2.2. Teneurs en flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été alors déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = 5.4114x + 0.0022$) et exprimée en mg d'équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (**Fig. 24**).

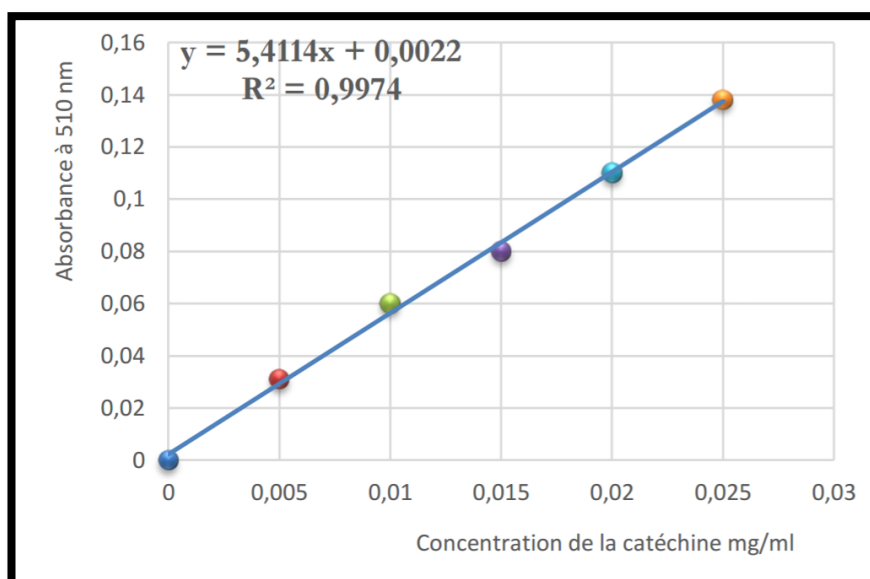


Figure 24 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Catéchine.

Selon la figure 25 et le tableau 4, Les teneurs en flavonoïdes enregistrées, montrent des quantités de ($512.40 \pm 0.06 - 263.20 \pm 0.31 - 467.60 \pm 0.12$ mg/g) pour l'extrait des feuilles de *Solenostemma argel* ; Feuille d'*Aloevera* ; Gel d'*Aloevera* respectivement :

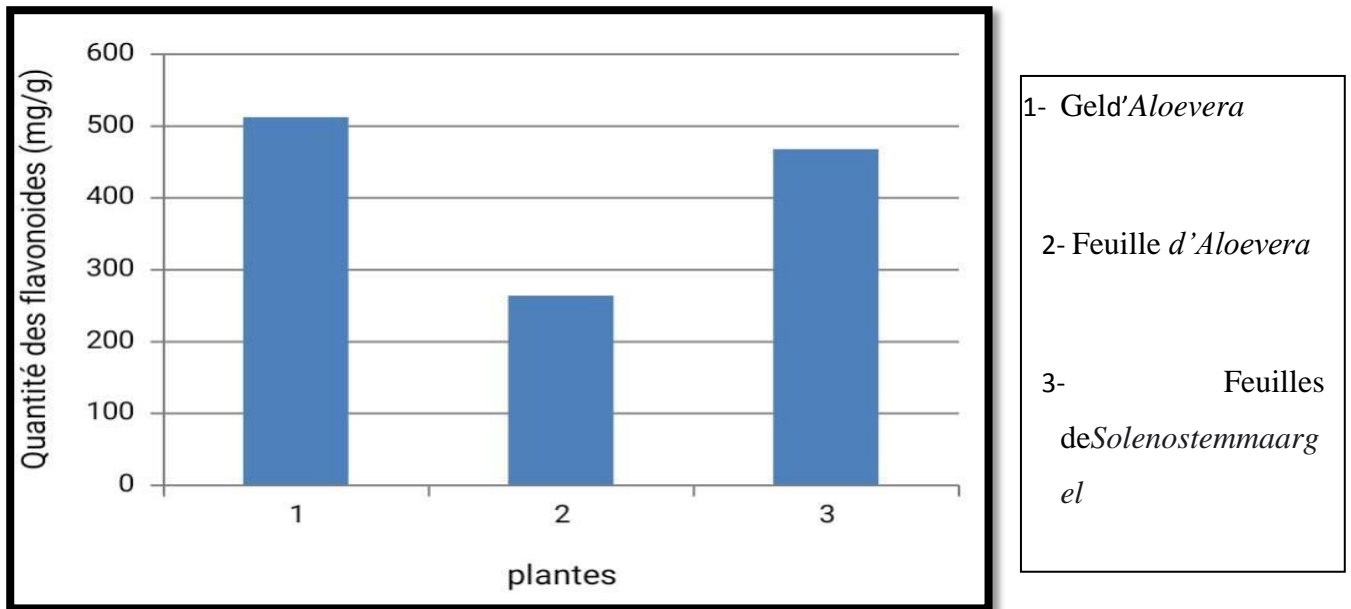


Figure 25: Histogramme représentant les teneurs en flavonoïdes de 3 extraits, exprimés en mg éq Catéchine /g de matière sèche.

Le gel d'Aloevera et Solenostemmaargel présentent les teneurs les plus élevées en flavonoïde (512.40 ± 0.06 – 467.60 ± 0.12 mg/g), par contre la plus faible quantité a été enregistrée chez les feuilles d'Aloevera (263.20 ± 0.31 mg/g) (tab.4).

Tableau 4 : Les valeurs des teneurs en flavonoïdes (mg éq Catéchine /g) de 3 extraits méthanoliques étudiés.

Plantes	Teneur en flavonoïdes (mg/g)
Gel d'Aloevera	512.40 ± 0.06
Feuille d'Aloevera	263.20 ± 0.31
Feuilles de Solenostemmaargel	467.60 ± 0.12

2. L'étude du pouvoir antioxydant :

2.1. Réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl DPPH (dosage spectrophotométrique):

L'activité antioxydante mise en évidence par le teste DPPH sur les extraits concernés a été exprimée par leur IC50 et qui est déterminée graphiquement à partir des droites représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes représentant la moyenne de trois tests séparer.

La valeur d'IC50 exprime la concentration de l'extrait nécessaire pour diminuer l'absorbance du DPPH de 50 % (inhibition de DPPH à 50 %).

Les valeurs d'IC50 des extraits ont été comparées aux IC50 de substance de référence qui est : l'acide ascorbique et qui a montré une respectivement une IC50 de 2.74 µg/ml.

Les valeurs d'IC50 des extraits actifs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 5: Les valeurs d'IC50 de déférents extraits actifs par rapport au témoin (antioxydants de référence).

Plantes	IC50 (µg/ml)
Gel d'Aloevera	76.89
Feuille d'Aloevera	80.91
<i>Feuilles de Solenostemmaargel</i>	80.87
Témoin positif	
Acide ascorbique (vit c)	2.74

Les résultats d'IC50 obtenus des extraits étudiés sont représentés sous forme des histogrammes (**Fig.26**) en comparaison avec les IC50 des antioxydants de références (acide ascorbique).

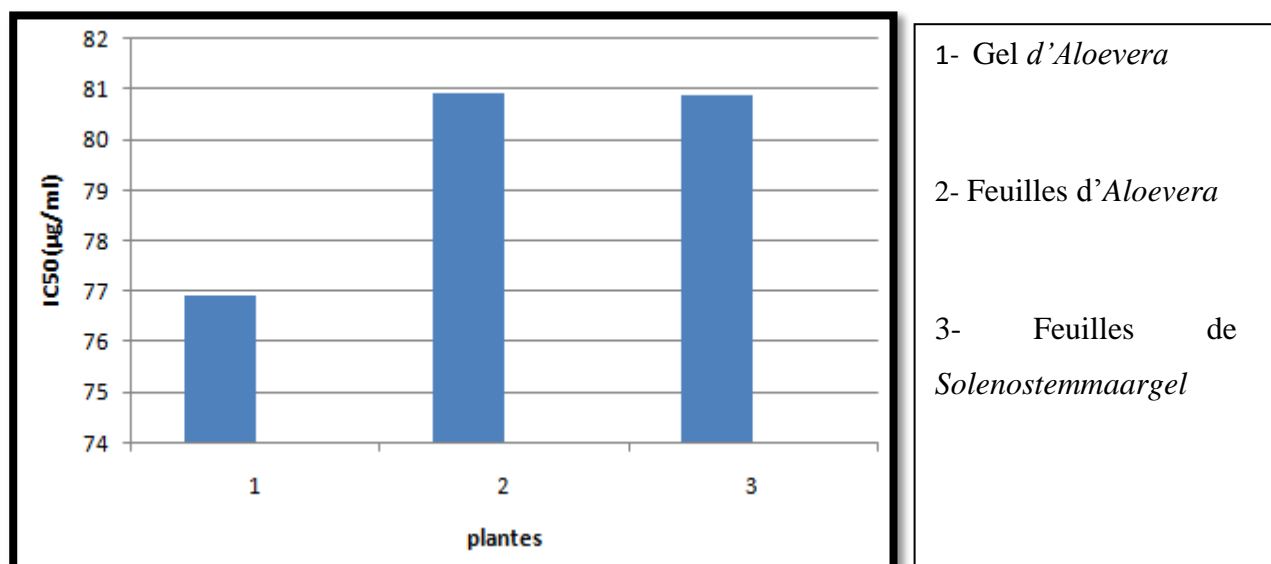


Figure 26 : Histogramme représentant les valeurs d'IC50 des extraits étudiés .

D'après les résultats d'IC50 reportés dans (le tableau 5 et figure 26), l'extrait de gel d'*Aloeveraa* montrés les valeurs les plus faibles de IC50 par rapport aux autre extraits (76.89µg/ml respectivement) cela prouve que cet extrait possède un pouvoir réducteur très élevé, et on peut l'expliquer par la présence importante des antioxydants naturels (richesse en polyphénols et en flavonoïdes trouvée précédemment). Les résultats obtenus montre aussi que les deux extraits : les feuilles d'*Aloeveraet Solenostemmaargel*présentent des valeurs élevées de IC50 (80.91 µg/ml ; 80.87 µg/ml respectivement). Ce qui indique que ces extraits présentent les plus faibles activitésantioydantes comparativement à l'extrait de gel d'*Aloevera*.

2.2.Corrélation entre l'activité antioxydante évaluée par DPPH et la teneur en polyphénols totaux des différents extraits testés :

Selon lesfigures 27 et 28, on constate qu'il y'a une corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et les teneurs en polyphénols totaux.

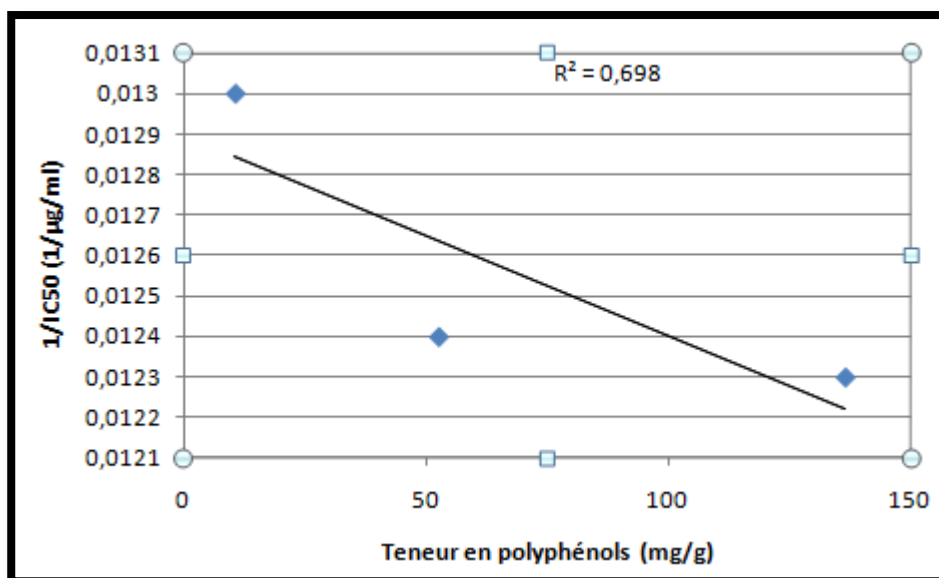


Figure 27 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en polyphénols totaux.

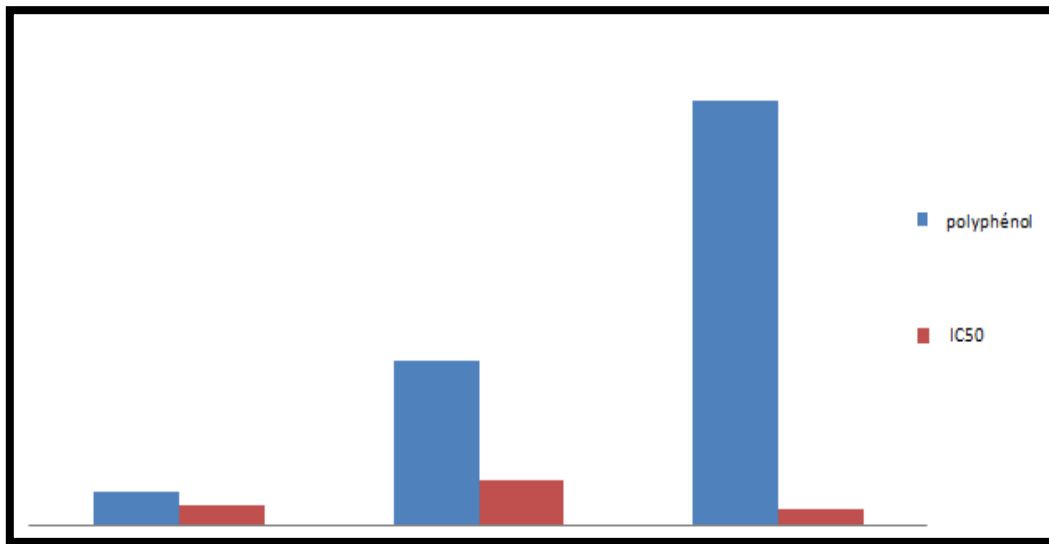


Figure 28: Comparaison entre IC50 et la teneur en polyphénols totaux des 03 extraits méthanoliques.

Il est bien établi que le profil phytochimique d'une plante est directement lié aux conditions de l'environnement tels que le climat, la localisation géographique, la température, la photopériode, le stade végétatif, etc... Ces facteurs influent sur les voies de synthèse des composés actifs de la plante, ces différences naissent des changements sur le potentiel antioxydant de la plante. En accord avec ce principe, nos résultats montrent qu'il existe une corrélation entre l'activité antioxydante (IC50) et la teneur en polyphénols ($R^2 = 0,698$). Cette corrélation explique que les extraits à hautes teneurs en polyphénols donnent une valeur IC50 faible, donc elles exècrent un effet antioxydant fort comme il est indiqué par l'histogramme (**fig. 28**). Cette corrélation entre les teneurs en polyphénols avec le potentiel antiradicalaire a été par ailleurs démontrée par: **CAI et al.** (2004); **WOJDYLO et al.** (2007); **LI et al.** (2008) ; **RACHED** (2009).

2.3.Corrélation entre l'activité antioxydante évaluée par DPPH et la teneur en flavonoïdes des différents extraits testés :

Dans le même but d'établir la relation entre l'activité antioxydante des extraits testés et leur teneur en flavonoïdes, (les figures 29 et 30) illustrent la variation d'IC50 en fonction des teneurs en flavonoïdes. Nous remarquons la présence d'une corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité antioxydante ($R^2 = 0.488$) représentée par l'indice IC50 évaluée par le test du piégeage de DPPH.

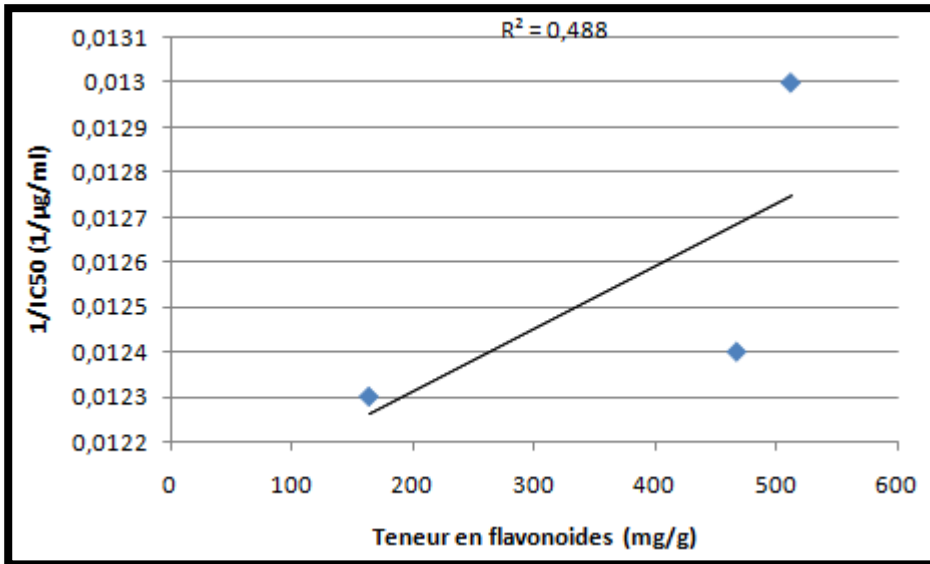


Figure 29 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en flavonoïdes.

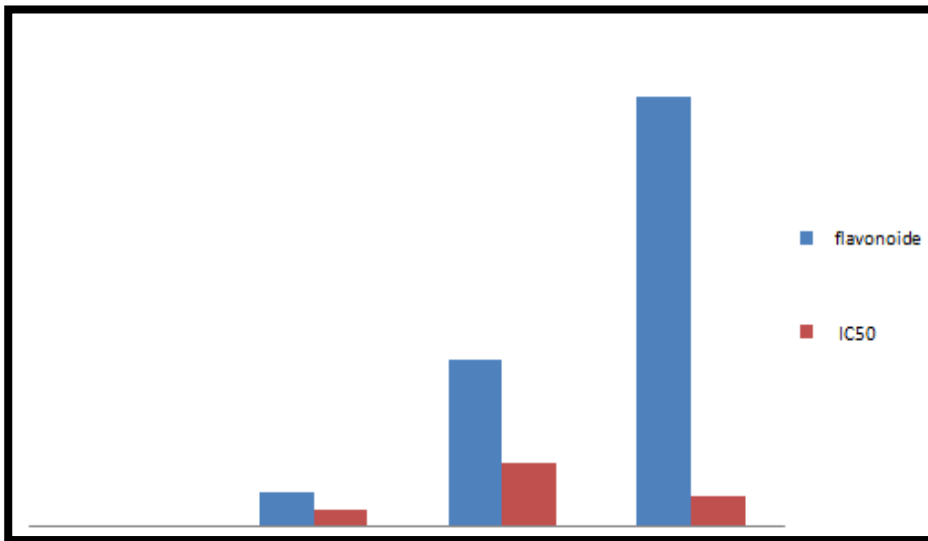


Figure 30 : Comparaison entre IC50 et la teneur en flavonoïdes des différents extraits actifs

On remarque bien que les extraits, qui possèdent des teneurs élevées en flavonoïdes, présentent des valeurs faibles de IC50 et donc un pouvoir antioxydant puissant ce qui démontré par les références précédemment (CAI *et al.*, 2004;WOJDYLO *et al.*, 2007;LI *et al.*, 2008; RACHED, 2009).

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'*Aloevera*, plante médicinale utilisée depuis des millénaires pour son suc et son gel, est composée de nombreux ingrédients actifs qui agissent seuls ou en synergie.

Le gel, riche en polysaccharides, vitamines, enzymes, stérols et minéraux, possède des activités antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires, ... Il présente également un certain intérêt dans le traitement de certaines maladies.

Une étude de propriété antioxydante a concerné deux plantes, très fréquemment employées en Algérie.

Aloevera et *Solenostemma argel* sont des plantes les plus réputées aujourd'hui, cette réputation est issue de ces caractéristiques thérapeutiques, alimentaires et cosmétiques, à cause d'une multitude de principes actifs qu'elles contiennent.

Au terme de ce travail concernant la caractérisation des polyphénols et leurs potentiel antioxydant des espèces étudiés (*Aloevera* et *Solenostemma argel*) nous pouvons dire que :

Les deux plantes sont riches en polyphénols et les flavonoïdes libres.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu, de l'étalonnage d'acide gallique a montré que l'*Aloevera* et *Solenostemma argel* sont riches en polyphénols avec des valeurs : $52.50 \pm 0.01 \text{ mg/g}$; $136.50 \pm 0.04 \text{ mg/g}$ pour le gel et feuilles d'*Aloevera* respectivement et $10.50 \pm 0.012 \text{ mg/g}$ pour feuilles de *Solenostemma argel*.

Le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 , de l'étalonnage de quercitrine a révélé que l'*Aloevera* et *Solenostemma argel* sont riches en flavonoïdes avec des valeurs : $512.40 \pm 0.06 \text{ mg/g}$; $263.20 \pm 0.31 \text{ mg/g}$ pour le gel et feuilles d'*Aloevera* respectivement et $467.60 \pm 0.12 \text{ mg/g}$ pour feuilles de *Solenostemma argel*.

Les résultats du test au DPPH ont montré que l'extrait de gel d'*Aloevera* a présenté une activité antioxydante très élevée avec une faible valeur de IC_{50} ($76.89 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits : les feuilles d'*Aloevera* et *Solenostemma argel* présentent des valeurs élevées de IC_{50} ($80.91 \mu\text{g/ml}$; $80.87 \mu\text{g/ml}$ respectivement) avec une activité antioxydante faible.

Le potentiel antioxydant est variable d'une partie de la plante à une autre, mais dans tous les cas, proportionnel à la teneur en polyphénols et en particulier les flavonoïdes qu'elle contient ces organes.

Les différences dans la composition des plantes en raison de leur situation géographique ainsi que des différences dans les méthodes d'extraction du gel et les techniques de préparation des

échantillons ont contribué aux divergences dans les résultats obtenus à partir de nombreuses études en termes de composition chimique et d'activités biologiques du gel de feuilles d'*Aloevera*.

Avec les développements technologiques dans le domaine de la chimie analytique, il est devenu plus facile d'isoler et de caractériser les composants chimiques des extraits végétaux et on s'attend à ce que davantage d'informations à cet égard soient disponibles dans la future.

Références bibliographiques

- ARUNKUMAR S.; MUTHUSELVAM M.**2009 -Analysis of phytochemical constituents and antimicrobial activities of Aloe vera L. against clinical pathogens. - *World J. Agric. Sci.*, 5(5), 572-576.
- AVIS RH**, 1994. Anti-inflammatory and wound healing of growth substance in Aloe vera. *Journal of the American Pediatric Medical Association*, , 84:77–81.
- AZAM S, HADI N, KHAN NU, HADI SM.**,2003 -Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med SciMonit.* ;3:325–330.
- BAHORUN T.**, 1997. Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d’approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, p 83-94.
- BARCROFT A.**, 1998 -*Aloe Vera*, remède naturel de légende. Editions medicis-entrelacs,
- BLOIS, M.S.**, 1958: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp 1199-1200.
- BOIZOT N., and CHARPENTIER .J.P.** (2006). Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l’Inra*. pp 79-82.
- BOROS B ., JAKABOVA S ., DORNYEI A ., HORVATH G., PLUHARE Z ., KILAR F.,** (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217: 7972–7980.
- BOULLARDB.**,2001. *Plantes médicinales du monde, croyance et réalité. éd. Estem*, p. 27.
- BOUZID W, YAHIA M, ABDEDDAIM M, ABERKANE M C et AYACHI A .,** 2011. Evaluation de l’activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l’Aubepine Monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12 (1), 59-69.
- BRUNETON J.** 1995. *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. Paris, Lavoisier.
- BRUNETON, J.**, 1999. *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. pp: 310-314.
- BURKILL, H.M.** 1985. *The useful plants of west tropical Africa*, Vol. 1
- CAI, Y., LUO, Q., SUN, M., CORKE, H.**, 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157–2184.
- COWAN M.M.**, 1999- *Plants products as antimicrobial agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.
- DACOSTA Y.**, 2003 -*Les phytonutriments bioactifs*, Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317
- DALZIEL.J.M.**,1937. *The useful plants of West tropical Africa*. London, the Crown Agencies for the colonie.
- DEUTSCHES ARZNEIBUCH** 1996..*Methoden der Biologie*. Stuttgart, DeutscherApothekerVerlag,.Vol. 2

- DI CARLO G., MASCOLO N., LZZO A.A., et CAPASSO F.** (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* 65 (4): 337-53.
- DONATIEN KONE.** (2009) Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine de Metz –UPV- M (France), 188p.
- EBRAHIMI N.S., HADIAN J., MIRJALILI M.H., SONBOLI A., et YOUSEFZADI M.** 2008. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymuscaramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry.*, 110 : 927-931.
- [EDZARD ERNST](#), [MAX H PITTLER](#)** , Médecines alternatives : le guide critique : Elsevier Masson, 2005, 504 p.
- EI-KAMALI, H. H.** (2001). Larvicidal Activity of Crude Aqueous Extracts of *Solenostemma argel* Against Mosquito Larvae. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants.* Vol. 8 (4): pp. 83-86.
- ENDRESS, M.E. and P.V BRUYNS,** 2000. A revised classification of Apocynaceae. I. *Bot. Rev.*, 66 : 1-56.
- FARNSWORTH, N.R.,** 1988. Screening plants for new medicines. Washington, D.C. Biodiversity Wislson, E. O. (Ed.) National Academy Press. 9, pp 83-97.
- FAVIER A.,** 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.
- FAVIER A.,** 2006 - Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.
- GARCIA-CLOSAS R., GONZALEZ CA., AGUDO A., RIBOLI E.,** (1999). Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control*, 10: 71-75.
- GOMEZ-CARAVACA A.M., GOMEZ-ROMERO M., ARRAEZ-ROMAN, D., SEGURA-CARRETERO, A., FERNANDEZ-GUTIERREZ, A.,** (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220–1234.
- GUIGNARD J.L.,** 1996. Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.
- HALLER JS.,** 1990 - A drug for all seasons, medical and pharmacological history of aloe. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 66: 647-659.
- HERRAIZ T, GALISTEO J.,** 2004. Endogenous and dietary indoles: a class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay. *Free Radical Res.* ;3:323–331.
- HEYWOOD, V.H., BRUMMITT, R.K., CULHAM, A., & SEBERG, O.** 2007. Apocynaceae. Pp. 38-40. In: Flowering Plant Families of the World. New York, Firefly Books.
- HU Y, XU J, HU Q.,** 2003, Evaluation of antioxidant potential of *aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *J Agric Food Chem.* 51(26):7788-7791.

- KHABABAE K. et REE T.V.** (2001). Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.*, 18 : 641–649.
- KHAN MA, TANIA M, ZHANG D, CHEN H.,** 2010. Antioxidant enzyme and cancer. *Chin J Cancer Res.*, 22:87-92.
- KIM D.O., JEONG S.W. et LEE C.Y.,** 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.
- KOHEN R. and NYSKA A.,** 2002 -Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* ; 30: 620-650.
- LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J., et LEE C.Y.** 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry.*, 51 : 7292-7295.
- LEVY L.** (1969). Carrageenan paw edema in the mouse, *L ifcSci* 8, pp 601-606.
- LI F., AWALE S., TEZUKA Y., KADOTA S.,** 2008. Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure- activity relationship. *Bioorganic & Medicinal chemistry* 16: 5434 - 5440.
- LIU RH.** 2000. Supplement quick fix fails to deliver. *Food TechnolInt.* ;3:71–72.
- LORENZETIL., SALISBURYR., BEALJ., BALDWINJ..** 1964-Bacteriostatic Property of *Aloe vera*. *J. Pharmacol., Sci.*, 3, 1287. p104.
- MACHEIX JJ., FLEURIET A. and JAY-ALLEMAND C.,** 2005 -Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- MAJINDA R.R.T., ABEGAZ B.M., BEZABIH M.** (2001) Resent resultants from naturel product resarch at the university of Botswana, *Pure. Appl. Chem.* 73 (7) : 1197-1208.
- MANALLAH, A.** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Thèse magister, Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- MAUJ-L. HUANG P-N. HUANG S-J.** (2004) Antioxydant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. *Food Chemistry*. 86 : 25-31.
- MEDIC-SARIC M., JASPRICA I., SMOLCICBUBALOA., and MOMAR A.** (2003). Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatica Chemica Acta* .77 (1-2):361-366.
- MICHAYEWICZ N.,** 2013 - L'*Aloevera*, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques. Plante miracle? Thèse Doctorat, Université de Lorraine, France, 149p.
- MILIAUSKAS. G., VENSKUTONIS P.R., et VAN BEEK T.A.** 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry.*, 85: 231-237.

- MORINE.**(2008). *Aloe vera* (L.)Burm.F. : Aspects pharmacologiques et cliniques. Thèse de doctorat, Université de Nantes , 207p.
- OMS** : Organisation mondiale de la Santé, 2012. Médecine traditionnelle : des textes anciens aux nouveaux médicaments, 90 (8), pp 557-632.
- OZSOY N., CAN A., YANARDAG R. et AKEV N.**,2008. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts.*Food Chemistry*,110,571-583.
- PARK P. J., JUNG W. K., NAM K.S., SHAHIDI F. and KIM S. K.** (2001) Purification and characterization of antioxidative peptides from proteinhydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*, 78 (6), 651-656.
- PERRONE, A.; PLAZA, A.; HAMED, A.; PIZZA, C.; PIACENTE and SONIA** (2008).*Solenostemmaargel*: A Rich source of Very Unusual, 14, 15-Secopregnane Glycosides with Anti-proliferative Activity. *current organic chemistry*, 12:18, 1648- 1660.
- PERROT E.et PARISR.**. 1971. Les plantes médicinales. Tome 1, *Ed.* Presses universitaires de France, p.9.
- RACHED W.**, 2009. Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de magistère, Univ. d'Oran. 120p.
- RAO, M.R, PALADA, M.C., BECKER, B.N.**, 2004. Medicinal and aromatic plants in agroforestry systems.*Agroforest. Syst.*, 61, pp 107-122.
- RODRÍGUEZ ER, MARTÍN JD, ROMERO CD.**, 2010.*Aloe vera* as a functional ingredient in foods. *Crit Rev Food SciNutr.* 50(4):305–26.
- SAHREEN S, KHAN M R and KHAN R A.**, 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122, 1205-1211.
- SARNI-MANCHADO P and CHEYNIER V.**, 2006-Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10
- SCHMELZERG.H., GURIB-FAKIMA.**, 2008.Ressources végétales de l’Afrique Tropicale 11(1), Plantes médicinales 1, Fondation PROTA, p.94.
- SCHOFIELD P ., MBUGUA D.M., PELL A.N.**(2001).Analyses of condensed tannins: a review *Animal Feed and Technology*,91:21-40.
- SHAYOUB, M. E.** (2003). Design formulation and evaluation of *Solenostemmaargel* tablets (ALHARGAL). Ph.D. Thesis, Faculty of Pharmacy. University of Khartoum- Sudan.
- SOFOS J.N. and SMITH, G.C.**, (1993).The headache of the United States meat industry: *E. coli*O157:H7. *Meat Focus Int.* 2: 317-325.
- SOHAL R. S., MOCKETT R. J. and ORR W. C.**, 2002 -Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical.Biol. Med.*; 33: 575-586.
- TAPIERO H., TEW K.D., NGUYEN B.G., and MATHÉ G.** (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* 56: 200-207.).

- TIM T. P. et LAMB A. J.** 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents.*, 26 : 343-356.
- TUCKER AO, DUKE JA, FOSTER S.**, 1989. Botanical nomenclature of medicinal plants. In: Cracker LE, Simon JE, eds. *Herbs, spices and medicinal plants, Vol. 4*. Phoenix, AR, Oryx Press, :169–242.
- URQUIAGA I.N.** and **LEIGHTON F.E.**, 2000 -Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.*; 33: 55-64.
- WATERHOUSE A.**, 1999. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. *Food Anal. Chem.*, 299, pp152-78.
- WHO.N.**, (2002). Traditional medicine, Department of Essential Drugs and Medicines policy, world Health Organization, Geneva.
- WOLLGAST, J., ANKLAM, E.**, (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33, 423 – 447.
- XIA EQ., DENG GF., GUO YJ.** and **LI HB.**, 2010. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646.
- YAO K., DE LUCA V.** and **BRISSON N.**, 1995 -Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to Phytophthorainfestans. *Plant, Cell*. 7: 1787-1799.
- YOUNGKEN HW.** 1950. Textbook of pharmacognosy, 6th ed. Philadelphia, Blakiston,

- <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/Solenostemma%20argel/en-en/>
- [http://uses.plantnet-project.org/fr/Solenostemma_argel_\(PROTA\)](http://uses.plantnet-project.org/fr/Solenostemma_argel_(PROTA))
- <http://www.mi-aime-a-ou.com/Apocynaceae.php>
- <http://www.projectnoah.org/spottings/11555031>
- <http://www.sahara-nature.com/plantes.php?aff=nom&plante=solenostemma%20argel>
- <http://www.sahara-nature.com/plantes.php?aff=nom&plante=solenostemma%20argel>
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Aloe_vera
- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Apocynaceae>