

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

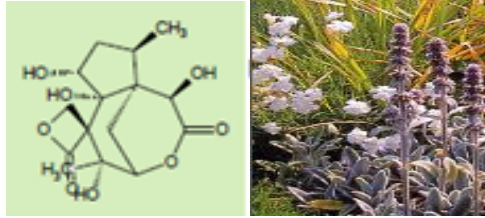
Université A. Benbadis/ Mostaganem
Faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie



جامعة ع بن باديس / مستغانم
كلية علوم
الطبيعة و الحياة

Département de Biologie
قسم البيولوجيا

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie
Option : Environnement & Santé



THÈME :

Contribution à l'Evaluation du Pouvoir Antioxydant
et de l'Activité Antimicrobienne de Quelques
Plantes Médicinales

Présenté par : *BESSEGHIER Djamel*

La composition de jury de soutenance

<i>Nom et prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Qualité</i>	<i>Appartenance administrative</i>
<i>Brahim KACEM</i>	<i>MCA</i>	<i>Président</i>	<i>Université de Mostaganem</i>
<i>Rachid DJIBAOU</i>	<i>MCA</i>	<i>Examinateur</i>	<i>Université de Mostaganem</i>
<i>Abdelwaheb CHIBANI</i>	<i>MCA</i>	<i>Examinateur</i>	<i>Université de Mostaganem</i>
<i>Abdelkader MEKHALDI</i>	<i>MCA</i>	<i>Encadreur</i>	<i>Université de Mostaganem</i>

Année universitaire : 2013 – 2014

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime ma profonde gratitude à Mr le docteur

Aek MEKHALDI (Université A. Benbadis / Mostaganem), qui m'a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail. Ses conseils pertinents m'ont permis de mener à terme ce travail.

Je remercie les membres de jury (Mr KACEM Brahim, Mr DJIBAOUI Rachid, Mr CHIBANI Abdel Waheb) d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

J'exprime mes plus vifs remerciements, et ma reconnaissance toute particulière et gratitude, qui ne sera jamais concrètement exprimé

à mes parents qui ont toujours cru en moi et qui ont su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous.

Merci pour tout.

Je ne remercierai jamais assez ABED, ZERROUKI S et SABAHI pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici le témoignage de mes remerciements les plus amicaux.

En fin, Je ne serais achever sans remercier mon frère BOUADJEMI AEK dont l'incalculable collaboration à mes recherches m'a apporté l'aide essentielle à la réalisation de ce travail

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 des propriétés antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques de quelques plantes médicinales récoltées des différentes régions de notre pays. Le pouvoir antioxydant a été évalué par les tests diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH) et pouvoir réducteur du fer (FRAP). L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de l'extrait méthanolique des plantes testées.

Les résultats obtenus concernant le dosage quantitatif des polyphénols totaux et des flavonoïdes par méthode colorimétrique a permis de qualifier *Quercus suber*, *Périlpoca laevigata*, *Osyris quadripartita*, *Salvia officinalis* et *Crataegus oxyacantha* comme étant les plus riches en composés phénoliques dont la teneur varie entre (304.50 ± 0.47 et 462 ± 0.28 mg EAG/ g MS), par contre *Quercus suber* et *Rosmarinus officinalis* L. ont montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes (232.93 ± 1 - 190.42 ± 1.9 mg EC/g MS).

Les méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydante montrent 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 05 extraits actifs et qui présentent les valeurs d'IC₅₀ les plus faibles, c'est le cas des extraits méthanoliques issus de : *Rosmarinus officinalis* ; *Salvia officinalis* ; *Quercus suber* ; *Crataegus oxyacantha* et *Périlpoca laevigata*. Ces valeurs allant de $15.40 \mu\text{g/ml}$ à $24.13 \mu\text{g/ml}$, alors que la méthode d'évaluation du pouvoir réducteur (FRAP) a montré que les extraits méthanolique testés sont regroupés en trois catégories : les plus actifs : *Quercus suber* ; *Périlpoca laevigata* (possèdent un pouvoir réducteur élevé comparativement au celle de la référence BHA), les extraits à effet réducteur moyenne et les plus faibles avec un pouvoir réducteur faible et inférieur que celle de la référence BHA.

L'activité antimicrobienne a montré que la souche *Staphylococcus aureus* est la plus sensible aux six extraits méthanoliques testés, alors que le reste des souches sont résistantes pour la majorité des extraits.

Mots clés : Pouvoir antioxydant ; Activité antimicrobienne ; polyphénols, flavonoïdes, plantes médicinales.

ملخص

المستخلصات النباتية الطبيعية تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية والتي تعود إليها مختلف الأنشطة البيولوجية. وتركز هذه الدراسة على تقييم الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الميثانولية لبعض النباتات الطبية التي تم جمعها من مناطق مختلفة من بلادنا. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة عن طريق اختبار محاصرة الجذر الحر ((DPPH واختبار القدرة على ارجاع الحديد (FRAP). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الميثانولية للنباتات المدروسة من خلال طريقة الانتشار في الأجار.

النتائج المحصل عليها و المتعلقة بالتقدير الكمي للبوليفينولات والفلافونويدات بطريقة التسجيل اللوني سمحت بتأهيل كل (*Crataegus* ، *Salvia officinalis* ، *Osyris quadripartita* ، *Rosmarinus officinalis* ، *Quercus suber*) *Périlpoca laevigata* ، *oxyacantha* على انها الأغنى بالمركبات الفينولية أين يتراوح المحتوى ما بين (304.50 ± 0.47 و 462 ± 0.28 ملغ مكافئ حمض الغاليك / غ مادة جافة) في حين: *Rosmarinus officinalis*، *Quercus suber* أظهرت أعلى محتوى من الفلافونويدات (190.42 ± 1.9 - 232.93 ± 1 ملغ مكافئ الكاتشين / غ مادة جافة).

طرق تقييم النشاط المضاد للأكسدة تبين أن جميع مستخلصات النباتات المدروسة تحمل خصائص مضادة للأكسدة بمستويات مختلفة. التقدير بالمقياس الطيفي بواسطة ارجاع DPPH كشفت 05 مستخلصات نشطة و التي لديها قيم IC50منخفضة ، وهو حال المستخلصات الميثانولية ل *Quercus suber* ، *Crataegus oxyacantha* ، *Périlpoca laevigata* ، هذه القيم تتراوح بين 15.40 ميكروغرام/مل و 24.13 ميكروغرام/مل، في حين طريقة تقييم القدرة الأرجاعية (FRAP) بينت ان المستخلصات الميثانولية المفحوصة تتوزع في ثلاث فئات: الأكثر نشاطا: *Quercus suber* ؛ *Périlpoca laevigata* (لديها قدرة ارجاعية عالية مقارنة بمضاد الاكسدة المرجعي BHA)، مستخلصات بنشاط ارجاعي متوسط ومستخلصات ضعيفة بقدرة ارجاعية منخفضة أقل من مضاد الاكسدة المرجعي BHA .

النشاط المضاد للميكروبات اثبت ان *Staphylococcus aureus* هي الأكثر حساسية لسته مستخلصات ميثانولية مدروسة، في حين أن السلالات المتبقية هي مقاومة لمعظم المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للتأكسد، التأثير المضاد للميكروبات، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، النباتات الطبية.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which are assigned a variety of biological activities. In this context, we attempted to evaluate the antioxidant activity of different extracts prepared from some medicinal plants collected different regions of our country. The antioxidant capacity was evaluated by diphenyl-picrylhydrazyl tests (DPPH) and reducing power of iron (FRAP). The antimicrobial activity of methanol extract of the plants tested was evaluated by the method of diffusion agar medium.

The results for the quantitative determination of total polyphenols and flavonoids by colorimetric method allowed to qualify *Quercus suber*, *Periploca laevigata* *Osyris quadripartita*, *Salvia officinalis* and *Crataegus oxyacantha* as the richest in phenolic compounds whose content varies between $(304.50 \pm 0.47 \pm 0.28$ and 462 mg EAG / g DM), by cons *Quercus suber* and *Rosmarinus officinalis* L showed the highest flavonoid content ($232.93 \pm 1-190.42 \pm 1.9$ mgCE/gDM).

The methods of evaluation of the antioxidant activity show that all of the plants tested extracts exhibit antioxidant properties in different levels. The spectrophotometric assay DPPH reduction highlighted 05 active extracts which have the lowest values of IC₅₀ as is the case of méthanolic extracts from: *Rosmarinus officinalis*; *Salvia officinalis*; *Quercus suber*; *Crataegus oxyacantha* and *Periploca laevigata*. These values ranging from 15.40 ug / ml to 24.13 µg/ml, while the evaluation method of reducing power (FRAP) showed that methanolic extracts tested are grouped into three categories: the most active: *Quercus suber*; *Periploca laevigata* (have a high reducing power compared to that of the reference BHA), extracts medium-reducing effect and the lowest with low and lower reducing power than the reference BHA.

Antimicrobial activity demonstrated that the *Staphylococcus aureus* strain is more sensitive to six methanol extracts tested, while the remaining strains are resistant to most of the extracts.

Keywords: Antioxidant; Antimicrobial activity; polyphenols, flavonoids, medicinal plants.

LISTE DES ABREVIATIONS :

ERO :	espèces réactives d'oxygène.
SOD :	superoxyde dismutase.
ERA :	espèces réactives de l'azote.
RNS :	Reactive Nitrogen Species.
ADN :	acide désoxyribonucléique.
MPO :	myloperoxidase.
NOS :	nitrite oxyde synthase.
NADPH oxydase :	Nicotinamide Adenine dinucleotide Phosphate-Oxidase.
IL-1b :	Interleukin-1 beta.
α -TNF:	tumor necrosis factor alpha.
IFN γ :	Interferon gamma.
NF-kB :	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.
AINS :	anti-inflammatoire non stéroïdien.
GSH :	Glutathion réduit.
GS-GS :	Glutathion oxide.
ATP :	adénosine triphosphate.
PAL :	phénylalanine ammonia liase.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
DPPH :	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.
[Fe(CN) $_6$] $^{3-}$:	anion hexacyanoferate (III) .

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$:	anion hexacyanoférate (II)
MéOH :	méthanol.
Na_2CO_3 :	carbonate de sodium.
FRAP :	Ferric Reducing Antioxidant Power.
NaOH :	hydroxyde de sodium.
NaNO_2 :	nitrite de sodium.
AlCl_3 :	trichlorure d'aluminium.
EAG/ g MS :	Equivalent Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.
EC/g MS :	Equivalent Catéchine par gramme de Matière Sèche.
CCM:	Chromatographie sur Couche Mince.
DO :	densité optique.
IP :	pourcentage d'inhibition.
BHA :	Butyl-hydroxyanisole
IC_{50} :	concentration inhibitrice médiane.
$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$:	ferricyanure de potassium
FeCl_3 :	chlorure de fer.
AMH :	Agar de Muller Hinton.
UFC :	Unit Forming Colony.
BHT :	Hydroxy Toluène Butylé
EC_{50} :	concentration effective à 50%.
APR :	pouvoir antiradicalaire .
R^2 :	coefficient de corrélation.

Liste des figures :

Figure 1 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Carduncellus pinnatus</i> (Desf.) DC.....	4
Figure 2 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Thapsia garganica</i> L.	5
Figure 3: Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Cotula cinerea</i> Del.....	7
Figure 4 : Caractéristiques des feuilles, des fleurs et des fruits de <i>Zygophyllum Album</i> L.	9
Figure 5 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	11
Figure 6: Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Convolvulus arvensis</i> L.	13
Figure 7 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Salvia officinalis</i> L.	14
Figure 8: Caractéristiques des feuilles et des fruits d' <i>Osyris quadripartita</i> Salzm	16
Figure 9: Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Lavandula multifola</i> L.....	17
Figure 10: Arbre de <i>Cedrus atlantica</i> Manetti et caractéristiques des feuilles et des fruits	19
Figure 11: Arbre de <i>Quercus suber</i> L. et caractéristiques des feuilles et des fruits	20
Figure 12: Caractéristiques des feuilles, des fleurs et des fruits de <i>Crateagus oxyacantha</i> (Poir.).....	21
Figure 13 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de <i>Péréploca Laevigata</i> L.	23
Figure 14 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde.....	26
Figure 15: Métabolites secondaires et prévention des certaines maladies.	29
Figure 16 : Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes.	33
Figure 17 : La voie de shikimate	37
Figure 18: La voie de phénylpropanoïde	38
Figure 19: Trans-resveratrol : le principal type des stilbènes	39
Figure 20 : Structure des principaux types des lignanes	40
Figure 21 : Structure de base et les principaux types des coumarines	41
Figure 22 : Structure de Quelques exemples de Xanthonés.....	41
Figure 23 : Structure de base des flavonoïdes	42
Figure 24 : Etapes communes de la biosynthèse de tous les flavonoïdes.....	43
Figure 25 : Situation géographique des stations de prélèvement des échantillons	52
Figure 26: a- Schéma de dispositif de l'extraction sous reflux ; b- dispositif de l'extraction sous reflux	55
Figure 27 : Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction	56
Figure 28 : Protocole d'extraction des composées phénoliques	56
Figure 29 : Spectrophotomètre utilisé pour la lecture d'absorbance.....	57
Figure 30 : Structure de 2-2 Diphényl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite.....	59

Figure 31 : Réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2})	62
Figure 32: Protocol de l'évaluation de l'activité antimicrobienne	65
Figure 33 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux réalisée à l'aide de l'acide gallique.	67
Figure 34 : Histogramme représentant la quantité des polyphénols totaux	67
Figure 35: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la catéchine.	70
Figure 36 : Histogramme représentant les teneurs en flavonoïdes	70
Figure 37: Screening de l'activité antioxydante par bio-autographie des extraits végétaux en utilisant le DPPH comme révélateur	73
Figure 38 : Activité antiradicalaire (% d'inhibition de radical DPPH) des extraits méthanoliques des différentes plantes étudiées	76
Figure 39: Histogramme représentent les valeurs d' IC_{50} des extraits et des antioxydants de référence.	77
Figure 40 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en polyphénols totaux	80
Figure 41 : Comparaison entre IC_{50} et la teneur en polyphénols totaux des différents extraits actifs.	80
Figure 42: Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en flavonoïdes.	81
Figure 43: Comparaison entre IC_{50} et la teneur en flavonoïdes des différents extraits actifs.....	82
Figure 44 : Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées.....	83
Figure 45 : Corrélation IC_{50} (FRAP) /polyphénol	86
Figure 46 : Corrélation IC_{50} (FRAP) /Flavonoïdes.....	86
Figure 47 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur.....	87
Figure 48 : comparaison entre les valeurs d' IC_{50} du test DPPH et celle du test FRAP.....	88
Figure 49: Photos représentent la zone d'inhibition de la croissance des souches testées par les 13 extraits des plantes étudiées.	89

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Espèces réactives de l'oxygène	25
Tableau 2: Principaux acides hydroxybenzoïques.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 3: Principaux acides cinnamiques	39
Tableau 4: Principales classes des flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 5 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne.....	49
Tableau 6 : Lieux de récolte des plantes et caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude.....	53
Tableau 7 : les souches microbiennes testées:.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 8: Les valeurs des teneurs en polyphénols (mg /g MS) de 13 extraits de plantes ou parties des plantes testées	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 9: Les valeurs des teneurs en Flavonoïdes (mg /g MS) de 13 extraits de plantes ou parties des plantes testées	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 10 : Screening du potentiel antioxydant de 13 extraits par bio-autographie (test antioxydant contre le DPPH). Tous les extraits ont été obtenus par extraction méthanoïque puis sécher à l'aide de Rotavapeur.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 11 : Les valeurs d'IC ₅₀ de différents extraits actifs par rapport aux témoins (antioxydants de référence).	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 12 : les valeurs d'IC ₅₀ , EC ₅₀ , APR des extraits et des trois antioxydants de référence.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 13 : Les différentes valeurs d'IC ₅₀ pour le pouvoir réducteur (FRAP) ..	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 14: Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques.	90

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
RAPPEL BOTANIQUE.....	3
1.1. Introduction :.....	3
1.2. Monographies des plantes étudiées :.....	4
1.2.1. <i>Carduncellus pinnatus</i> (Desf.) DC :.....	4
1.2.2. <i>Thapsia garganica</i> L :.....	5
1.2.3. <i>Cotula cinerea</i> Delile.....	6
1.2.4. <i>Zygophyllum album</i> L.....	8
1.2.5. <i>Rosmarinus officinalis</i> L. :.....	10
1.2.6. <i>Convolvulus arvensis</i> L. :.....	12
1.2.7. <i>Salvia officinalis</i> L:.....	14
1.2.8. <i>Osyris quadripartita</i> Salzm :.....	15
1.2.9. <i>Lavandula multifida</i> L.:.....	17
1.2.10. <i>Cédrus atlantica</i> :.....	18
1.2.11. <i>Quercus suber</i> L :.....	19
1.2.12. <i>Crateagus oxyacantha</i> (Poir.) DC :.....	21
1.2.13. <i>Périploca Laevigata</i> L. :.....	22
2.1. Le Stress Oxydant :.....	24
2.1.1. Historique :.....	24
2.1.2. Définition d'un radical libre :.....	24
2.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène :.....	25
2.1.4. Rôles des radicaux libres :.....	26
2.1.5. Définition du stress oxydant :.....	26
2.1.6. Mécanismes d'action des radicaux libres (Origine du stress oxydant) :.....	27
2.1.7. Les conséquences du stress oxydant :.....	30
2.1.8. Les maladies liées au stress oxydant :.....	30
2.2. Les antioxydants :.....	31
2.2.1. Définition :.....	31
2.2.2. Les principales sources d'antioxydants :.....	31
2.2.3. Rôles des complexes antioxydants :.....	33
2.3. Les composés phénoliques :.....	35
2.3.1. Généralités :.....	35
2.3.2. Biosynthèse des composés phénoliques :.....	36

2.3.3. Principales classes des composés phénoliques:.....	38
2.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols	48
MATÉRIEL & METHODS	52
3.1. Matériel végétal :	52
3.1.1. Choix des plantes:.....	52
3.1.2. Récolte du matériel végétal:	54
3.2. Techniques utilisées.....	54
3.2.1. Préparation des échantillons pour l'extraction:	55
3.2.2. Extraction :	55
3.2.3. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes :.....	57
3.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de plantes :.....	59
3.2.5. L'évaluation de l'activité antimicrobienne :.....	63
3.2.6. Analyse statistique:	65
RESULTATS & DISCUSSION	66
4.1. Détermination de la Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes:	66
4.1.1. Teneurs en polyphénols totaux :.....	67
4.1.2. Teneurs en flavonoïdes :	69
4.2. Détermination du potentiel antioxydant :	73
4.2.1. Détermination de l'activité antioxydante par bio-autographie :	73
4.2.2. Réduction du radical libre 2,2-diphény 1,1-picrylhydrazyl (DPPH) (dosage spectrophotométrique):.....	75
4.3. Réduction du fer (FRAP) :	82
➤Corrélation entre les teneurs (polyphénols totaux, flavonoïdes) et IC ₅₀ de FRAP:	85
➤Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur de déférentes extraits méthanoliques testés :	86
4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne :	88
CONCLUSION GENERALE.....	92

INTRODUCTION GENERALE

L'importance des ressources végétales naturelles n'est plus à démontrer, surtout en milieu rural où, le plus souvent, elles jouent un rôle fondamental dans la survie et le développement des populations. En effet, les végétaux ont toujours profité et profitent encore aux populations rurales détentrices d'un patrimoine inestimable et qui bénéficient d'une grande variabilité de ressources biologiques utiles et bien souvent indispensables à leur survie: médicinale, alimentaire, bois d'œuvre et de feu, perches, ... (**Gueye et al.**, 2012).

Actuellement, et selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaires. Plus de 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée et plus de 50% des produits pharmaceutiques disponibles sur le marché sont d'origine naturelle (**Hamilton**, 2003). Par conséquent, les quelques 250.000 à 300.000 espèces inventoriées de plantes que l'on trouve sur terre, dont seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives, représentent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels.

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**Bérubé-Gagnon**, 2006).

Les végétaux produisent des métabolites primaires qui entrent dans le fonctionnement vital de la cellule. Elles synthétisent également de nombreux composés qualifiés de «secondaires» dont toutes les fonctions n'ont pas encore été identifiées mais qui sont fondamentaux, notamment pour l'adaptation des plantes à leur environnement. Les composés font partie de ce métabolisme secondaire, dont les 1 Plusieurs familles de composés phénoliques ou polyphénols. Chez les végétaux, ces polyphénols sont, entre autres, impliqués dans les mécanismes de résistance aux stress biotiques et abiotiques (**Bénard et al.**, 2009).

La flore algérienne joue un rôle clé dans le soutien de la médecine traditionnelle, qui est largement pratiquée dans le pays. Cette flore comporte une riche diversité de plantes médicinales et endémiques (**Marzouk et al.**, 2011). La plus part de ces plantes qui sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne ont le potentiel de fournir des produits naturels pharmacologiques actifs (**Beloued**, 2005; **Hammiche** et **Maiza**, 2006).

Aujourd'hui, la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine naturelle est basée sur la répartition des plantes médicinales et sur les études ethnobotaniques qui permettent de réaliser des inventaires de plantes d'une zone ou d'un pays, puis par des études phytochimiques et pharmacologiques. De ce fait, la valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays (**Muanda**, 2010).

On retrouve des antioxydants dans toutes les plantes, ils sont qualifiés de métabolites secondaires. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles, nous citerons les propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatatrices, anti-cancérigènes, anti-thrombiques, anti-athérogéniques, antipyrétiques, analgésiques, etc. (**Gómez et al.**, 2006 ; **Muanda** , 2010).

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits des plantes étudiées et que ses utilisations traditionnelles partant de l'hypothèse que les vertus médicinales de ces plantes seraient dues principalement à leur activité antioxydant.

Notre recherche est axée vers l'identification de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes), l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de diverses plantes ou parties de plantes étudiées.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques des plantes étudiées et nous décrirons quelques métabolites secondaires, leurs importances dans l'organisme et la biosynthèse de certains d'entre eux.

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 l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Chapitre 1 :

RAPPEL BOTANIQUE

1.1. Introduction :

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti et al.**, 2005).

Vers les années 1990 les grandes compagnies pharmaceutiques se sont détournées des produits naturels pour s'intéresser à la chimie combinatoire, croyant que dans quelques années le nombre de médicament serait plus élevé, cependant ce n'était pas le cas malgré le grand budget investis pour la recherche. Par conséquent le nombre de médicaments a chuté d'une façon remarquable sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées et testées (**Bérubé**, 2006).

En partant de ces résultats et données, les biologistes et les chimistes reconnaissent l'importance majeure de produits naturels et que les méthodes et les techniques de biotechnologie ainsi que la chimie sont limitées; ce qui peut expliquer le grand intérêt porté à la recherche de composés issus des sources naturelles.

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (**Madi**, 2010).

1.2. Monographies des plantes étudiées :

1.2.1. *Carduncellus pinnatus* (Desf.) DC :

1.2.1.1. Position systématique (Selon Gonzáles, 1989) :

Embranchement : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

S/Classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Carduncellus*

Espèce : *pinnatus* (Desf) DG.

1.2.1.2. Description morphologique :

C'est une plante vivace dont la tige mesure moins de 20 cm, à feuilles épineuses en rosette serrée. Les feuilles mesurent de 10 à 30 cm et sont pennatiséquées à segment ovales à bordes munis de petites épines un seul capitule ovoïde très gros (40 - 50 mm de diamètre) à fleurs bleuâtre, feuilles larges à la base et épineuses Akènes (fruits) gros de 7 X 4 - 5 mm avec une aigrette de poils scabres longues de 30 - 40 mm et formant une pelote un peu rosâtre.

1.2.1.3. Noms vernaculaires :

En Arabe : الخرشف

En Français : Carthame penne



Figure 1 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Carduncellus pinnatus* (Desf.) DC.

(<http://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-recherche.php>)

1.2.1.4. Biotope et répartition :

Elle affectionne les pelouses sèches sur sol acide ou marneux et les chaisières (les espaces sans arbres au milieu d'un bois ou d'une forêt)

Cette plante est commune en Afrique du nord et en méditerranée.

1.2.1.5. Domaines d'application et intérêts

Les fleurs fournissent une matière colorante rouge très estimée pour la teinture qu'on emploie en pharmacie et parfumerie pour colorer les produits et les pommades, les graines contiennent une huile comestible.

1.2.2. *Thapsia garganica* L :

1.2.2.1. Position systématique (Selon Maire, 1938) :

Embranchement : Spermaphyta

Sous-Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Thapsia*

Espèce : *garganica* L.

1.2.2.2. Description morphologique :

Plante vivace, puissante à tige striée, glabre trameuse dans le haut, atteignant de 0.90 à 1.40 m, feuilles vertes glabres, racines volumineuses, noirâtre extérieurement, blanche intérieurement. Fleurs jaunes, fruits elliptiques comprimés par le dos, ailes latérales très développées, brillantes d'un jaune, finement striées (Pottier, 1979).



Figure 2 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Thapsia garganica* L.
(<http://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-recherche.php>)

1.2.2.3. Noms vernaculaires :

En arabe : الدرياس أو بونافع

En français : Thapsia du mont-gargan.

1.2.2.4. Biotope et répartition :

Thapsia garganica est présente en Algérie, au Maroc, en Tunisie et en Lybie (Dobignard et Chatelain, 2011) mais aussi en Turquie, Espagne, Portugal, Italie et en Grèce (Hand, 2011). Cette plante apprécie les clairières forestières les pâturages sablonneux, les steppes dans les plaines et les basses montagnes (Bamin et Douira, 2004)

1.2.2.5. Domaines d'application et intérêts :

Thapsia garganica est une plante médicinale répandue dans la thérapeutique traditionnelle. Elle est connue pour ses effets diurétiques, émétiques et purgatifs.

Les feuilles fraîches chauffées et trempées dans l'huile d'olive, étaient appliquées en cataplasme afin de calmer les douleurs articulaires. Les racines sont fortement indiquées dans le traitement des infections utérines chez les femmes, traitement de la stérilité féminine.

Les racines contiennent principalement la Thapsigarine, qui est capable d'induire la libération d'histamine de divers cellules (Ali *et al.*, 1985), et même comme anti tumoral qui peut cibler et après activation tuer par apoptose les cellules du cancer de la prostate (Winther *et al.*, 2010).

1.2.3. *Cotula cinerea* Delile :

1.2.3.1. Position systématique (Selon Ozenda, 1991) :

Embranchement : Spermaphyta

Sous-Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Cotula*

Espèce : *cinerea* Delile

1.2.3.2. Description morphologique :

Le genre *Cotula* (*Asteraceae*) comprenant 80 espèces est très répandu dans l'hémisphère sud ((Heywood *et al.*, 1977) et est représenté par trois espèces en sud Algérie dont *Cotula cinerea* Delile (Ozenda, 1977).

Cotula cinerea L., syn. *Brocchia cinerea* Del Vis., une plante xérophile largement distribuée dans des sols sableux et désertiques (Maiza *et al.*, 1993; Markouk *et al.*, 1999).

C'est une petite plante annuelle, sa longueur atteint habituellement entre 10 à 20 cm. Les feuilles blanchâtres, laineuses disséquées dans leurs parties supérieures avec lobes plats. Les fleurs sont regroupées en têtes jaunes hémisphériques discoïdes (de 6 à 10 mm de diamètre). Les fruits sont des petits akènes de 5 mm de longueur. Il fleurit au début du printemps dans les zones du nord du Sahara, et en tout temps après la pluie dans le centre du Sahara de l'Algérie (Benhouhou et Saadoun, 1986).

1.2.3.3. Noms vernaculaires :

En Arabe : قرطوفة

En Anglais : Saharan Camomile

En français : Camomille du Sahara



Figure 3 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Cotula cinerea* Del. (D'après Dendougui *et al.*, 2012).

1.2.3.4. Biotope et répartition :

Local : Très fréquente dans le Sahara algérien.

Régional : Afrique du Nord.

Global : Elle est commune dans tout le Sahara, y compris la région de la mer Rouge et le Sinaï.

1.2.3.5. Domaines d'application et intérêts :

Cette plante médicinale est couramment utilisée dans la médecine populaire algérienne, ainsi que dans le reste de la région du Maghreb, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antiseptiques (Jana, 1996) et en tant que substance aromatique et digestif dans le thé (Bellakhdar 1998). Elle a été également rapportée comme analgésique, antipyrétique (Larhsini *et al.*, 2002), bactériostatique (Jana *et al.*, 1992) et antiprotozoar (Markouk *et al.*, 1999).

Elle est très appréciée dans le thé vert ou mélangé avec de la nourriture pour rehausser la saveur (Beloued, 2005 ; Hammiche et Maiza, 2006). Elle est préparée en décoction ou sous forme de poudre de la plante entière ou les têtes de fleurs mélangées avec d'autres

plantes après séchage, elle est utilisée en tant que fébrifuge, soit en décoction ou en cataplasme sur le front et les tempes (**Benhouhou** et **Saadoun**, 1986).

1.2.3.6. Phytochimie :

Plusieurs composés ont été isolés à partir de *C. cinerea*, notamment des flavonoïdes, y compris des aglycones tels que la quercétine, la lutéoline, l'apigénine et d'hétérosides comme le rhamnosyl et les dérivés glucosyliques (**Ahmed et al.**, 1987), des lactones sesquiterpéniques, des coumarines et des tanins sesquiterpéniques (**Larhsini et al.**, 2002).

1.2.4. *Zygophyllum album* L :

1.2.4.1. Position systématique (Selon **Quézel & Santa**, 1963) :

Embranchement : Spermaphyta

Sous-Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Zygophyllales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Zygophyllum*

Espèce : *album* L.

1.2.4.1. Description morphologique :

Le *Zygophyllum album* connu sous le nom «aggaya», est une espèce du genre *Zygophyllum* de la famille des Zygophyllaceae (**El Ghoul et al.**, 2011), cette famille comprend approximativement 27 genres et 285 espèces (**Hussein et al.**, 2011), elle est représentée principalement dans les régions arides et semi arides : ainsi au Sahara Algérien on observe 7 genres et 27 espèces (**Ozenda.**, 1977), elle constitue plus de 3% de la flore du désert dont plus du tiers est endémique (**Smati.**, 2009). Le genre *zygophyllum* est le plus répandu de la famille (**Hussein et al.**, 2011). Ce sont des plantes très adaptées au milieu désertique par leur système de racines horizontales qui parcourent de longues distances et absorbent la moindre goutte d'eau (**Smati.** 2009).

Les espèces du genre *Zygophyllum* se présentent souvent sous forme de buissons bas, ramifiés dont les feuilles opposées, composées en général de 2 folioles cylindriques, charnues et gorgées d'eau, ont donné le nom à la famille. Les fleurs axillaires ont 10 étamines à base élargie. Le fruit de *Zygophyllum album* est une capsule portée par un pédoncule court. Elle est formée d'une partie inférieure soudée et d'une partie supérieure

dont les 55 lobes libres ont à peu près la même longueur que la partie soudée (Smati., 2009).

1.2.4.2. Noms vernaculaires :

En arabe : العفاية

En français : *Zygophyllum* blanc



Figure 4 : Caractéristiques des feuilles, des fleurs et des fruits de *Zygophyllum Album* L. (http://www.Africamuseum.be/collection/external/prelude/view_plant)

1.2.4.3. Biotope et Répartition :

Cette espèce est très commune sur les terrains salés et les pâturages désertiques du sud tunisien. Moins fréquente en Algérie, on la trouve cependant au Sahara central, dans la région de Djanet et au Sahara septentrional dans la région d'El Goléa (Smati., 2009).

Elle se rencontre, en pieds isolés dans les zones sableuses un peu salées, et en colonies sur de grandes surfaces, sur sols salées et sebkha.

1.2.4.4. Domaines d'application et intérêts :

Beaucoup d'espèces du genre *Zygophyllum* possèdent des effets biologiques qui sont exploités par la médecine traditionnelle : le *Z. coccineum* est utilisé contre les rhumatismes et l'hypertension (El Hamsas, 2010), le *Z. gaetulum* est connu pour ces propriétés antidiabétiques, antispasmodiques et il est utilisé aussi contre l'eczéma (Smati et al., 2004). En Algérie, *Z. album* est utilisée pour le traitement du diabète, des spasmes et des dermatites (El Hamsas, 2010).

1.2.5. *Rosmarinus officinalis* L. :

1.2.5.1. Position systématique (Selon Zaouli, 2003) :

Embranchement : Spermaphyta
Sous- Embranchement : Angiospermae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : *Rosmarinus*
Espèce : *officinalis* L.

1.2.5.2. Description morphologique :

Le romarin fait également partie de la famille des Lamiacées ou Labiées. Il possède donc les mêmes caractéristiques morphologiques qui sont communes à l'ensemble de cette famille (Besombes, 2008). Le genre *Rosmarinus* est représenté par trois espèces différentes, mais *Rosmarinus officinalis* est la principale. Ces caractères sont les suivants :

- arbuste toujours verts, de 60 cm à 2m de haut et pouvant vivre jusqu'à 30 ans,
- tige, à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœuds distancés de 0,5 à 2mm,
- feuilles opposées, coriaces, sessiles, linéaires, entières, de 1,5 à 4,5cm de long, aux bords enroulés vers le bas ; face supérieure vert sombre et glabre, face inférieure blanche, tomenteuse, parcourue par une nervure saillante, et portant poils articulés ramifiés et poils glandulaires fortement serrés,
- inflorescence spiciforme, à fleurs subsessiles, qui s'épanouissent toute l'année,
- calice gamosépale, poudré-blanchâtre, tube en forme de cloche, à 3 lobes, le plus large est la lèvre supérieure et les deux autres forment la lèvre inférieure,
- corolle gamopétale, tubuleuse, à 2 lèvres (la supérieure à 2 lobes en forme de casque, l'inférieure à 3 lobes, avec le médian plus large, concave),
- 2 étamines, et des anthères allongées uniloculaires,
- le fruit est un tétrakène, de couleur brune,
- fleurs bleu pâle, lilas ou blanchâtres, maculées de petites taches violettes à l'intérieur.

Cette espèce très polymorphe, présente plusieurs variétés. Mais, à cette différenciation morphologique très aléatoire, nombreux botanistes préfèrent s'appuyer sur la composition chimique de l'huile essentielle pour lister quatre hémotypes, suivant le composé dominant :

- romarin à cinéole,
- romarin à verbénone,
- romarin à camphre, bornéol,
- et, parfois, romarin à myrcène.

1.2.5.3. Noms vernaculaires :

En arabe : إكليل الجبل أو الحلال

En français : Romarin



Figure 5 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Rosmarinus officinalis* L.
(<http://davesgarden.com/guides/pf/showimage>)

1.2.5.4. Biotope et répartition :

Le romarin pousse pratiquement dans tous les pays du bassin méditerranéen. On le trouve en Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) et un peu partout, depuis l'Europe méditerranéenne (France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie) jusqu'en Asie mineure en passant par l'île de Chypre. Le romarin pousse également au Moyen Orient (Égypte, Liban et Palestine) (**Ghanmi et al.**, 2011).

Elle peuple les forêts, broussailles et matorrals des plaines et des basses et moyennes montagnes, sur substrat calcaire. Elle est rencontrée en Atlas saharien, Haut Atlas, Moyen Atlas (**El Rhaffasit houssaine**, 2008).

1.2.4.5. Domaines d'application et intérêts :

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme un tispasmodique (**Gonzalez-Trujano et al.**, 2007).

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al.**, 1996 ; **Souza et al.**, 2008) ;

- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et al.**, 2000 ; **Pérez et al.**, 2007 ; **Wang et al.**, 2008)
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques (**Cheung et Tai**, 2007)
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (**Singletary et Nelshoppen**, 1991) et la prolifération des tumeurs cutanées (**Huang et al.**, 1994)
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al.**, 1995)
- Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (**Aruoma et al.**, 1996) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1.

1.2.6. *Convolvulus arvensis* L. :

1.2.6.1. Position systématique (Selon **Sa'ad**, 1967) :

Embranchement : Spermatophyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Solanales

Famille : Convolvulaceae

Genre : *Convolvulus*

Espèce : *arvensis* L.

1.2.6.2. Description morphologique :

Le Liseron est une plante herbacée au rhizome charnu et rampant donnant naissance à des tiges volubiles, atteignant 3 mètres de longueur. Les feuilles sont ovales-triangulaires à sagittées, vert sombre sur le dessus, plus claires sur le dessous.

A leur aisselle apparaissent, portées par de longs pédoncules, de grandes fleurs isolées, largement ouvertes en entonnoir, elles sont de couleurs blanches, rosées ou bleues.

La tige en croissance peut décrire en 1h 30 un cercle de plusieurs cm de diamètre dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (**Loubna**, 2007). Le fruit est une capsule globuleuse contenant 3 à 4 graines. C'est également une excellente plante mellifère et pollinifère (**Rodzko**, 2000).

1.2.6.3. Noms vernaculaires :

En arabe : اللبلاب

En français : Liseron des champs.



Figure 6 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Convolvulus arvensis* L.
(D'après **Rodzko**, 2000).

1.2.6.4. Biotope et répartition :

Commun ou très commun en générale, dans la région méditerranéenne, et Nord de l'Afrique (Algérie, Maroc).

On le retrouve souvent dans les milieux cultivés où il croît sur des zones retournées, pas trop humides et enrichies en azote. Cette plante pérenne se multiplie aisément via ses racines souterraines pour couvrir de grandes surfaces. Elle est pour cela considérée comme une mauvaise herbe des cultures et se retrouve souvent la cible de traitements phytosanitaires dans les champs (**Muratet et Duron**, 2012).

1.2.6.5. Domaines d'application et intérêts :

En usage interne, le Liseron est surtout recommandé quand la constipation est la résultante de l'insuffisance hépatique. Le Liseron possède également des propriétés diurétiques et fébrifuges. Cependant, les effets drastiques font qu'il demeure aujourd'hui peu employé. En usage externe, pour mûrir "un clou", écraser quelques feuilles de Liseron entre les doigts et les appliquer sur le furoncle, il percera alors rapidement (**Rodzko**, 2000).

1.2.6.6. Principaux constituants :

Tanins, glucosides (Jalapine), mucilages, sels minéraux, résine.

1.2.7. *Salvia officinalis* L. :

1.2.7.1. Position systématique (Selon Madi, 2010)

Embranchement : Spermaphyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *officinalis* L.

1.2.7.2. Description morphologique :

C'est un sous-arbrisseau de 25 à 50 cm, à rameaux nombreux et dressés, d'odeur aromatique forte. Ces fleurs, d'un bleu violacé, s'épanouissent depuis le mois de mai jusqu'au mois de juillet et parfois encore au mois d'août.

Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées; fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée; fruits en forme de tétramères (Hans, 2007).



Figure 7 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Salvia officinalis* L.

1.2.7.3. Noms vernaculaires :

En arabe : المرامية (السلامية)

En français : La sauge.

1.2.7.4. Biotope et répartition :

La sauge est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Djerroumi et Nacef, 2004). Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (Longaray *et al.*, 2007)

Elle croit dans les terrains secs, sur les collines arides et dans les endroits pierreux plus particulièrement dans la région méditerranéenne (la grande flore).

1.2.7.5. Domaines d'application et intérêts :

En usage externe (en décoction), ses propriétés sont résolutes, antiseptiques et cicatrisantes. En tisane ou en aromate, elle facilite la digestion. Elle est aussi utilisée dans le traitement du diabète car elle diminue la glycémie. Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès, et aussi le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi et Nacef, 2004).

Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de circulation sanguine et les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux (Radulescu *et al.*, 2004) cette herbe aromatique est utilisée dans la cuisine pour son gout puissant, légèrement amer et camphré (Duling *et al.*, 2007).

1.2.8. *Osyris quadripartita* Salzm :

1.2.8.1. Position systématique (Selon APG II, 2003)

Embranchement : Spermaphyta

Sous-Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Eudicots

Sous classe : Rosids

Ordre : Santalales

Famille : Santalaceae

Synonyme : *Osyris*

Espèce : *quadripartita* Salzm

1.2.8.2. Description morphologique :

Osyris quadripartita Salzm. (= *Osyris lanceolata* Hochst) est un arbuste ou petit arbre mince avec 3 m d'hauteur. Les racines sont probablement des parasites. Cette espèce habite souvent les pentes rocheuses surélevées. L'écorce est lisse et d'une couleur grise. Les feuilles sont persistante, ovales, atteignant jusqu'à 35 x 17-27 mm, épaisses, avec une couleur vert-bleue. Les fleurs sont en grappe, petites, jaunâtres, vertes. Le fruit est une drupe, ovale, d'environ 15 x 10 mm, couronné d'un calice persistant, rouge lumineux et noir violacé à maturation. La période de floraison dure presque six mois pour les femelles et une année

pour les males. L'intervalle de maturation entre l'anthèse et le fruit est variable (13 à 54 semaines). Par conséquent, des fruits mûrs sont produits tout au long de l'année (Van Wyk, 1997 ; Singh, 2005).

1.2.8.3. Noms vernaculaires :

En Arabe : مجاز

En Anglais : Transvaal sumach, Bergbas, Timbers



Figure 8 : Caractéristiques des feuilles et des fruits d'*Osyris quadripartita* Salzm
(http://sophy.u-3mrs.fr/Photo-cp/Osm/Osyris_quadripartita)

1.2.8.4. Biotope et repartition :

Osyris quadripartita se produit naturellement sur les affleurements rocheux et les pentes des montagnes de brousse, la savane arborée, la forêt et sur les marges des forêts, de l'Eastern Cape Nord à travers la moitié orientale de l'Afrique du Sud à l'Afrique centrale.

1.2.8.5. Domaines d'application et intérêts :

Au fil des siècles, le bois d'*Osyris* a fait l'objet d'un commerce pour son parfum, ses propriétés médicinales, sa valeur religieuse et les possibilités qu'il offrait en matière de sculpture (parmi les principaux produits faisant l'objet d'un commerce international figurent les huiles aromatiques extraites du duramen, le bois destiné à l'artisanat, et la sciure pour la fabrication d'encens). L'huile est utilisée en parfumerie. L'extrait de la plante est efficace dans la réduction de la perméabilité capillaire accrue induite par des médiateur chimique (ex : Histamine).

1.2.9. *Lavandula multifida* L :

1.2.9.1. Position systématique (Selon Upson & Jury, 2002):

Embranchement : Spermaphyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Lavandula*

Espèce : *multifida* L.

1.2.9.2. Description morphologique :

C'est un arbrisseau présentant une tige fortement ramifiée, portant des rameaux herbacés densément couverts de feuilles linéaires, sessiles et persistantes. Les tiges sont droites et mesurent environ 70 cm de haut, elles se terminent par des épis impairs de fleurs bleues ou violettes. Le fruit est un akène. La plante constitue un excellent pâturage pour les abeilles et dégage une odeur agréable.

1.2.9.3. Noms vernaculaires :

En arabe : الخزامى

En français : La lavande



Figure 9 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Lavandula multifida* L.
(<http://www.jardin-ecologique.fr/collecion-de-lavandes>)

1.2.9.4. Biotope et répartition :

La lavande est originaire des canaris et des régions montagneuses bordant la méditerranée, à climat tempéré et doux, dont le sol est pauvre et rocheux. Elle est considérablement cultivée pour ses fleurs aromatiques dans différentes régions de France, Italie, Angleterre, et même dans l'extrême nord de la Norvège. Elle est également cultivée en Australie à des fins industrielles, se rencontre dans les rocailles, pâturages, sur substrat calcaires et siliceux et sols superficiels. (Boullard, 2001).

1.2.9.5. Domaines d'application et intérêts :

La lavande est une plante mellifère par excellence. La double utilisation de la lavande, en pharmacie et en parfumerie, remonte à des temps très anciens. Elle est citée dans de nombreux textes anciens ayant trait à la médecine, à l'hygiène et à la beauté.

Des siècles d'usage du parfum à la lavande n'en ont pas altéré le charme, et il reste un des composants de base de la parfumerie moderne. L'huile essentielle de la lavande doit aussi sa popularité à son fort pouvoir cicatrisant et à son innocuité. Elle a des propriétés antiseptiques, bactéricides et désinfectantes (**Bhar** et **Balouk**, 2011).

1.2.10. *Cédrus atlantica* Manetti :

1.2.10.1. Position systématique (Selon **Emberger**, 1960) :

Embranchement : Spermaphytes

S/ Embranchement : Gymnospermes

Classe : Vectrices

Ordre : Coniférales

S/ Ordre : Abiétales

Famille : Pinacées

Genre : *Cedrus*

Espèce : *atlantica* Manetti.

1.2.10.2. Noms vernaculaires :

Nom français : Cèdre de l'Atlas

Nom Arabe : الأرز أو المداد

1.2.10.3. Description morphologique :

C'est un arbre d'allure majestueuse et imposante pouvant atteindre une hauteur de 30 – 40 m à port pyramidal s'étalent avec l'âge, branches fortes les rameaux sont à couleur gris jaunâtre, les feuilles sont à forme aiguilles glauques à apex aigu, les fleurs sont strobiles males ovoïdes de 2 cm, s'allongent ensuite pour atteindre une longueur maximale de 5 cm, les cônes (fruits) de 5 à 8cm de long, sur 4 à 5 de large, à sommet aplati.

Le cèdre de l'Atlas est un arbre monoïque, les fleurs mâles et les inflorescences femelles sont portées par le même arbre mais sur des rameaux différents (**Boudy**, 1950; **Debazac**, 1964).



Figure 10 : Arbre de *Cedrus atlantica* Manetti et caractéristiques des feuilles et des fruits (d'après **Ghanmi et al.**, 2011).

1.2.10.4. Biotope et répartition :

Endémique à l'Afrique du nord, en l'Algérie dans l'Atlas (Djurdjura) et au Maroc au moyen atlas (dont djebel Hebri), dans le haut atlas et dans la chaîne du Rif, Le cèdre de l'Atlas vit dans les zones montagneuses (altitude 1500-2500m).

1.2.10.5. Domaines d'application et intérêts :

L'huile essentielle aromatique a des propriétés antiseptiques. Elle est utilisée tonifiante pour le système lymphatique, Athérosclérose, Eczéma, la Toux, Rhume, Grippe, Antimystique (Graucher, 2008).

1.2.11. *Quercus suber* L :

1.2.10.1. Position systématique (Selon Natividade, 1956):

Embranchement : Spermaphyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Hamamelidae

Ordre : Fagales

Famille : Fagaceae

Genre : *Quercus*

Espèce : *suber* L.

1.2.11.2. Description morphologique :

Le chêne-liège est un arbre de grandeur moyenne, atteignant une hauteur de 10 à 15 mètres (parfois 20 mètres et plus) et une circonférence de 5 mètres. En peuplement mélangé, Il se trouve essentiellement associé au chêne vert, au chêne pédonculé et au pin maritime dans le cadre d'une futaie irrégulière ou d'un taillis sous futaie (Younsi, 2006).

Les feuilles, petites (de 3 à 5 cm), alternes, coriaces, ovales-oblongues, sont bordées de dents épineuses et cotonneuses sur leur face inférieure, et persistent sur l'arbre pendant deux à trois ans. Les fleurs jaunâtres s'épanouissent vers avril-mai, les fleurs mâles, en chatons, et femelles, minuscules, sont séparées sur le même pied. Les glands oblongs, enveloppés sur la moitié de leur longueur par les cupules, sont réunis par deux sur des pédoncules courts et renflés. L'écorce épaisse, isolante et crevassée peut atteindre 25 cm d'épaisseur.

1.2.11.3. Noms vernaculaire :

En arabe : بلوط الفلين أو السنديان الفليني

En français : Le chêne-liège



Figure 11 : Arbre de *Quercus suber* L. et caractéristiques des feuilles et des fruits
(<http://penninckxplantes.penninckx.org/Quercussuber.php>)

1.2.11.4. Biotope et répartition :

Le chêne-liège est circonscrit à la région de la méditerranée occidentale et déborde le long du sud de la façade atlantique, où les influences de la mer et de l'océan permettent de tempérer la grande amplitude des oscillations thermiques et l'aridité de la saison d'été du climat méditerranéen au sens strict (**Cantat et al.**, 2005). Le chêne-liège est une essence endémique de la méditerranée occidentale débordant sur les côtes atlantiques (**Zeraia**, 1981 ; **Piazzetta**, 2005).

Cette espèce couvre une superficie totale d'environ 1704 000 ha (**Yessad**, 2000), éparpillés sur sept pays : Portugal, Espagne, France, Italie, Algérie, Tunisie et Maroc.

1.2.11.5. Domaines d'application et intérêts :

Le chêne est :

- anti-diarrhéique : traitement symptomatique des diarrhées chroniques ;
- hémostatique : traitement symptomatique des hémorragies (hémoptysies, hématuries) ;
- tonique astringent : traitement externe des leucorrhées, brûlures, engelures, impétigo intertrigo, hémorroïdes, fissures, gerçures ;
- antisudoral : pour se faire on utilise aussi bien les feuilles que l'écorce. (Mulot, 2004).

1.2.12. *Crateagus oxyacantha* (Poir.) DC :

1.2.11.1. Position systématique (Selon Lakshmi *et al.*, 2012):

Embranchement : Spermaphyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Rosales

Famille : Rosaceae

Genre : *Crateagus*

Espèce : *oxyacantha* (Poir.) DC



Figure 12 : Caractéristiques des feuilles, des fleurs et des fruits de *Crateagus oxyacantha* (Poir.) DC. (D'après Lakshmi *et al.*, 2012).

1.2.12.2. Noms vernaculaires :

En arabe : الزعرور

En français : Aubépine blanche.

1.2.12.3. Description morphologique :

Il s'agit d'un arbuste buissonnant de 2 à 5m de haut possédant des branches épineuses , les feuilles dentées et incisées sont divisées en trois à cinq lobes peu profonds, vert luisant dessus, plus pâles dessous, l'aubépine a des fleurs blanches, fortement odorantes. Disposés en larges cymes. Les fruits de l'aubépine sont de petites drupes (1noyau) de couleur rouge avec une chaire jaune.

1.2.12.4. Biotope et répartition :

L'Aubépine est très commune dans toute l'Europe, en Asie, dans le nord de l'Amérique, occupe tous les terrains et peut pousser jusqu'à 1600 m, c'est-à-dire de l'étage collinéen à l'étage montagnard.

1.2.12.5. Domaines d'application et intérêts :

L'aubépine a une action dilatatrice sur les coronaires et aide ainsi à prévenir les crises d'angor. Elle diminue la tension artérielle chez les hypertendus et grâce à ces effets, elle est considérée comme «l'amie du cœur», à la base de nombreux soins du système cardiovasculaire (Bhar et Balouk., 2011). Elle réduit la nervosité et l'anxiété des adultes et des enfants, soigne les troubles du sommeil et elle a un effet Anti-inflammatoire et anti-apoptotique (Navin *et al.*, 2012).

1.2.13. *Périploca Laevigata* L :

1.2.13.1. Position systématique (Cronquist ,1981) :

Embranchement : Spermaphyta

Sous- Embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Gentianales

Famille : Asclepiadaceae

Genre : *Périploca*

Espèce : *laevigata* L.

1.2.13.2. Noms vernaculaires :

En arabe : هلاب

En français : Périploque



Figure 13 : Caractéristiques des feuilles et des fleurs de *Périploca Laevigata* L.
(http://www.anthos.es/imagenesplantas/Periploca_laevigata_1_JL1_COL.jpg2013)

1.2.13.3. Description morphologique :

Arbuste de 1-2 m de hauteur généralement très ramifiée, à feuilles persistantes, en écorce latex. Simples, opposées, feuilles linéaires-lancéolées, entières, glabres, jusqu'à 4 cm de long et 1 cm de large, presque assis (pétiole très court). Inflorescences en petites cymes peu fournies, corolle étalée en roue, brun pourpre à bord jaune verdâtre.

Inflorescences en cymes axillaires. Fleurs hermaphrodites, actinomorphe, pentamères sauf gynécée, environ 15 mm de diamètre. Lobes du calice triangulaire, d'environ 3 mm. Corolle de cinq pétales glabres, de couleur violet foncé, environ 7 mm. Fruit de type difolículo, 5-11 cm de long, ressemblant à petites cornes ils divergent (séparée pour former un angle droit, plus ou moins). Graines avec panache de poils blancs.

1.2.13.4. Biotope et répartition :

Bosquets, des sites rocheux et sableux, secs près de la mer. De 5 à 50 m. On est dans la zone sud-ouest de la région méditerranéenne et les îles Canaries.

1.2.13.5. Domaines d'application et intérêts :

Il est utilisé comme un ingrédient alimentaire (thé) et comme une préparation à base de plantes en raison de ses propriétés médicinales réputées, par exemple, pour le traitement de maux de tête et le diabète (**Floc'h**, 1983).

L'écorce des racines est utilisée en décoction contre la toux et contre les Rhumatisme, et possédée une activité anti hypertensive (**Jawaid et al.**, 2011).

Chapitre 2:

**STRESS OXYDANT
&
POLYPHENOLS**

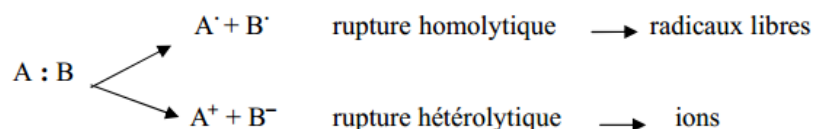
2.1. Le Stress Oxydant :

2.1.1. Historique :

Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, **Gerschman** puis **Hartman** évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la «free radical theory» pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains **McCord** et **Fridovich** isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (**Favier**, 2003).

2.1.2. Définition d'un radical libre :

La majeure partie de la toxicité de l'oxygène provient de la formation de radicaux libres, c'est -à-dire, selon la définition proposée par **Halliwell** et **Gutteridge**, d'espèces capables d'existence indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant : (**Bonnefont-Rousselot et al.**, 2003).



Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres (**Bonnefont –Rousselot et al.**, 2003).

Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule : ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano à la milliseconde) (**Koechlin-Ramonatxo**, 2006). Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que

tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (**Diallo**, 2005).

2.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également d'autres composés non-radicalaires très réactifs. Certaines espèces réactives de l'azote (ERA ou RNS en anglais pour Reactive Nitrogen Species) sont parfois mentionnées comme appartenant à cette classification puisqu'elles possèdent un atome d'oxygène et qu'elles se comportent de manière similaire (espèces généralement radicalaires, pouvoir oxydant important, générées et régulées par l'organisme) aux ERO vis-à-vis du stress oxydant. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Espèces réactives de l'oxygène (**Bonnefont –Rousselot et al.**, 2003)

ROS	Formule chimique
Oxygène moléculaire	$^3\text{O}_2$
Dioxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Anion superoxyde	O_2^-
Radical hydroxyle	$\text{OH}\cdot$
Radical hydroperoxyde	$\text{HOO}\cdot$
Radical peroxyde	$\text{ROO}\cdot$
Hydroperoxyde	ROOH
Radical alkoxyde	$\text{RO}\cdot$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	$\text{NO}\cdot$
Peroxinitrite	$\text{ONOO}\cdot$
Hypochlorite	$\text{ClO}\cdot$

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 primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier**, 2003).

Par ailleurs, tous les radicaux libres ne sont pas des dérivés de l'oxygène (fig.14), par exemple le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre dérivé de l'azote (**Bonnefont-rousselot et al.**, 2003).

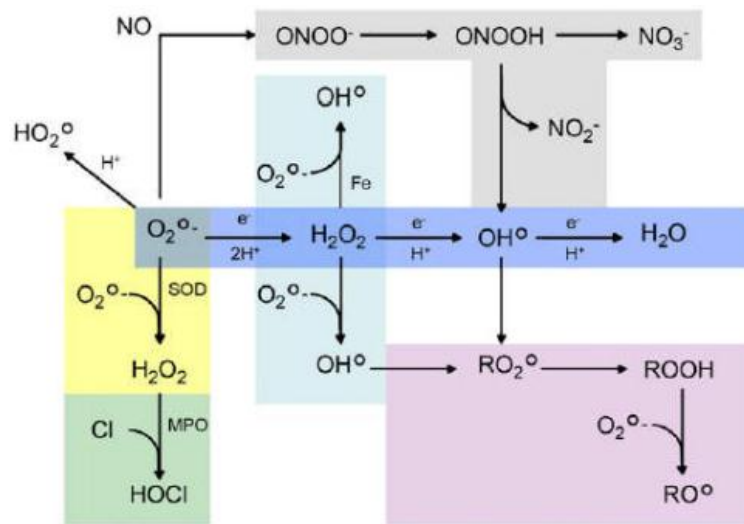


Figure 14 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Il ne faut pas penser que tous les radicaux d'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde comme le monoxyde d'azote ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (**Favier, 2003**).

2.1.4. Rôles des radicaux libres :

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier, 2003**), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

2.1.5. Définition du stress oxydant :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents.

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

2.1.6. Mécanismes d'action des radicaux libres:

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient.

L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans les cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium. Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres ont tout le loisir d'être nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (leur structure est modifiée); ils agressent également les protéines, les microfibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et l'ADN lui-même est transformé entraînant l'apparition d'où une série d'anomalie dont le risque de cancérisation. Lorsque les radicaux libres lèsent les acides gras insaturés on parle de lipidoperoxydation des membranes cellulaires. Cela déclenche alors une réaction en chaîne sur les divers acides gras du voisinage jusqu'à ce qu'ils soient neutralisés.

Il en résulte des lésions de la membrane cellulaire, qui peuvent aboutir à des dérèglements d'intensité variable, conduisant éventuellement à la mort cellulaire. Ils ont un effet analogue sur les mitochondries, les enzymes cellulaires, les chromosomes, le collagène et l'acide hyaluronique. Au cours de la vie nous sommes soumis à des millions de

circonstances favorisant la production de ces radicaux libres, particulièrement néfastes pour la peau (**Franceschini**, 1994).

Dans le schéma (Fig. 15), la génération de ROS est initiée pendant la respiration. Cette génération est facilitée par l'implication de divers facteurs physiologiques et environnementaux (UV, radiation, ozone, cigarette, pollution...). Dans l'organisme la fabrication d'un assortiment de ROS à partir de l'O₂ moléculaire et de la L-arginine se réalise par l'intermédiaire de différentes enzymes tels que le MPO (myloperoxidase), la NADPH oxydase, le SOD (superoxyde dismutase) et le NOS (nitrite oxyde synthase). La présence de ces composés dans l'organisme engendre plusieurs phénomènes au niveau cellulaire, à savoir, les dommages de protéines, de l'ADN, la peroxydation lipidique et tous ces phénomènes donnent naissance à une vaste gamme de maladies.

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines.

L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, les ischémies/reperfusions suivant des thromboses (**Favier**, 2003), le dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale ; l'activation de systèmes enzymatiques ; la libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (**Pincemail**, 2002).

Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (**Favier**, 2003).

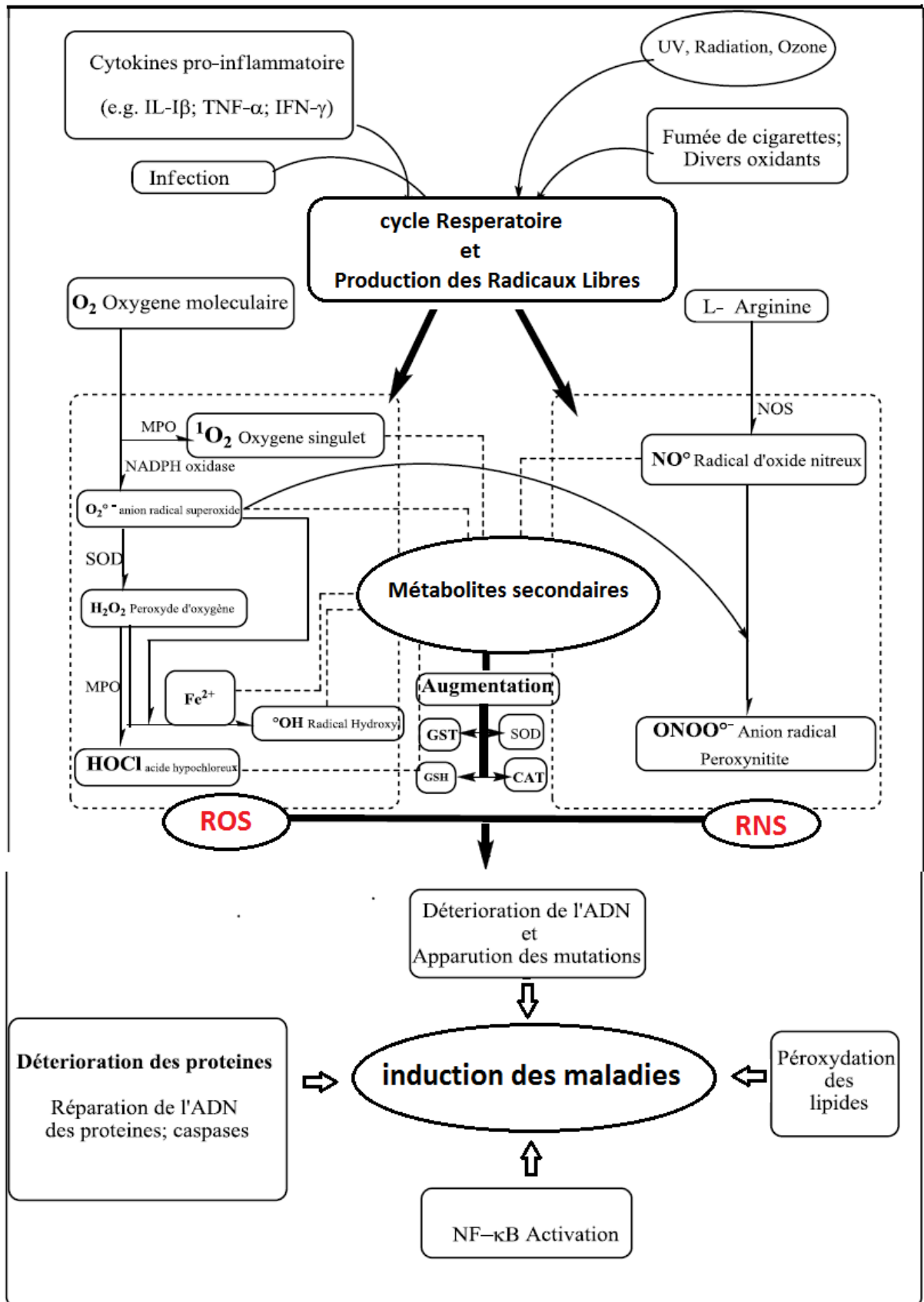


Figure 15: Métabolites secondaires et prévention des certaines maladies (Muanda, 2010)

2.1.7. Les conséquences du stress oxydant :

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Koechlin-Ramonatxo**, 2006).

La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques.

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont «réparées» entraînent à long terme des altérations géniques (**Koechlin-Ramonatxo**, 2006).

Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les EOR attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage.

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (**Favier**, 2003).

2.1.8. Les maladies liées au stress oxydant :

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer,

cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier**, 2003).

2.2. Les antioxydants :

2.2.1. Définition :

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (**Diallo**, 2005).

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons UV, des radiations ionisantes et de métaux de transition (**Ekoumou**, 2003). Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet O₂, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, les peroxydes alkyles ROOH, le radical super oxyde O₂, les radicaux hydroxyles HO, peroxydes ROO et alkoxyles RO (**Cavin**, 1999). Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (**Ahamet**, 2003).

2.2.2. Les principales sources d'antioxydants :

2.2.2.1. Les médicaments :

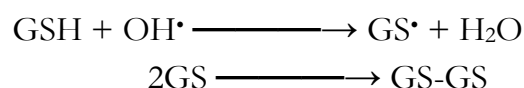
Certaines classes thérapeutiques telles que les AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien), les antihyperlipo-proteinémiques, les β -bloquants et antihypertenseurs sont connus pour leurs propriétés antioxydantes (**Ahamet**, 2003).

Le plus simple des capteurs des radicaux libre est l'alcool éthylique, agent de transfert d'hydrogène qui conduit à un composé biologiquement compatible, l'acétaldéhyde, bio oxydable par la chaîne enzymatique avec production d'énergie.



Certains médicaments, l'exemple du probucol (lurselle) fait diminuer le taux du cholestérol dans le sang et, la N-acétylcystéine agit dans la régénération du glutathion en pénétrant les cellules.

Les propriétés de la glutathionne ont été reconnues lors d'études sur les phospholipides des feuilles de certains végétaux. En effet les thiols sont beaucoup plus actifs que les hydrocarbures, les alcools ou les phénols comme agents de capture radicalaire (**Le Perchec**, 1994).



La capacité de protection de la glutathionne est jugée supérieure à celle d'un antioxydant aussi puissant que l' α -tocophérol. On observe *in vitro*, que la glutathionne introduit une période d'induction à la prise d'oxygène par l'hémoglobine et retarde l'oxydation de la fraction hydrocarbonée insaturée des lécithines (esters insaturés d'acide gras de phospholipides) et de l'aniline (**Mieyal**, 1978).

2.2.2.2. Les vitamines :

a- Vitamine C (acide ascorbique) :

La Vitamine C contient une forme énediol qui produit la forme dicétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H. La forme énediol est régénérée par l'intervention d'enzyme super oxyde dismutase en présence d'une catalase.

On trouve la vitamine C dans les légumes, les choux, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**Bossokpi**, 2002).

b- Vitamine E :

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes (**Bossokpi**, 2002).

c- β -carotène :

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyionique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydro peroxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H

conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (Bossokpi, 2002).

2.2.2.3. Les antioxydants naturels :

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont des composés phénoliques (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,...)

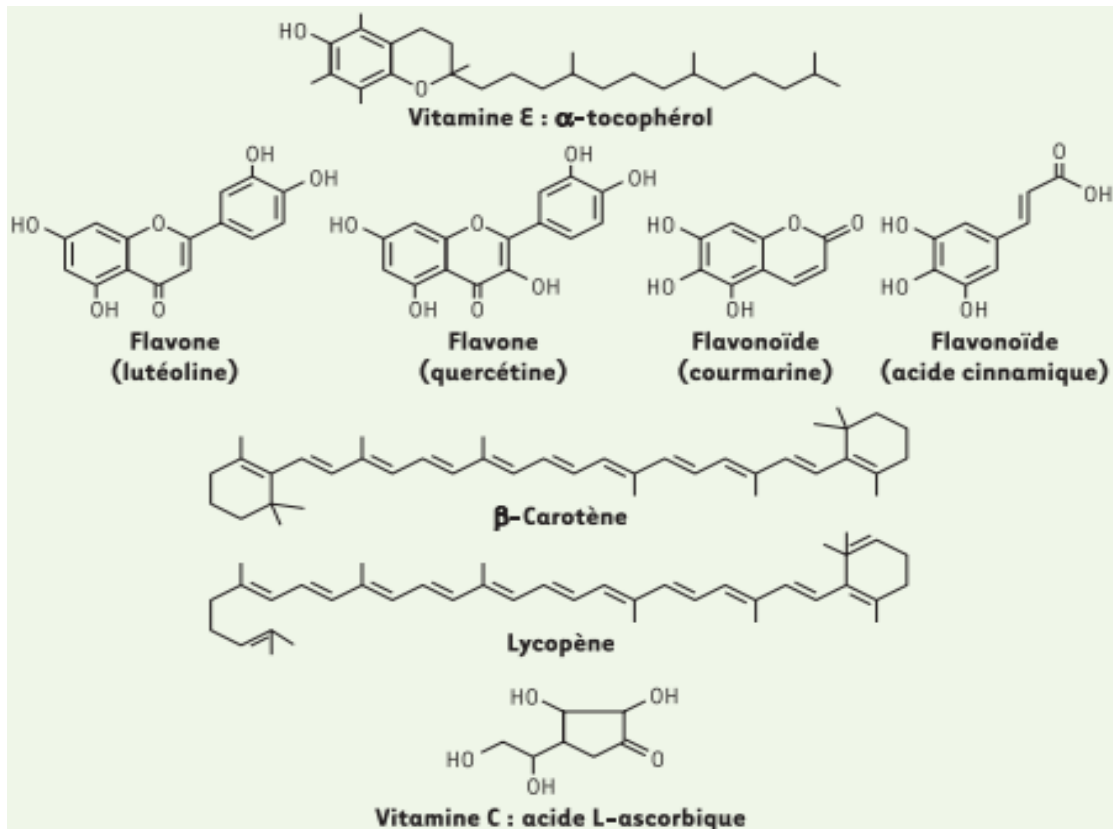


Figure 16 : Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes (Marc *et al.*, 2004).

2.2.3. Rôles des complexes antioxydants :

La vie en aérobiose se traduit au niveau cellulaire par l'existence d'une chaîne respiratoire mitochondriale nécessaire au stockage de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). La chaîne respiratoire est une succession de phénomènes d'oxydoréduction au cours desquels il existe des transferts d'électrons. Ces électrons peuvent réagir avec une molécule avoisinante pour aboutir à la formation d'un radical libre. Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite électronique la plus externe. Les radicaux libres sont produits au cours de nombreuses réactions engagées dans les mécanismes

physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection, toute pathologie dégénérative et vieillissement accéléré) et au cours de la pollution (par les métaux lourds, les xénobiotiques, ozone, les rayonnements ionisants...). L'athérosclérose est un bon modèle de pathologie liée au stress oxydant car c'est à la fois une maladie dégénérative, inflammatoire et infectieuse (**Muanda**, 2010).

Dans toutes les cellules aérobies, les radicaux libres sont essentiellement des radicaux oxygénés. Leur hyperactivité les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation, avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN, formant des produits très instables. Ceux-ci donnent lieu à des réactions en chaîne générant de nouveaux radicaux libres. Ce processus de peroxydation s'auto-entretient de lui-même et il faut attendre l'obtention de produits stables par réaction entre deux radicaux ou l'intervention de substances protectrices dites «piégeurs de radicaux libres» pour l'arrêter (**Muanda**, 2010). La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agents différents :

- les protéines non enzymatiques (albumine, haptoglobine et transferrine) jouent un rôle antioxydant par chélation des ions,
- les enzymes tels que les superoxyde-dismutases et les glutathion-peroxydases transforment des radicaux très prooxydants en substances inoffensive,
- les antioxydants d'origine nutritionnelle, les caroténoïdes, les tocophérols (Vit E) et l'acide ascorbique (Vit C).

Le rôle des métabolites secondaires en matière de prévention des maladies causées par les radicaux libres a été clairement établi par plusieurs études (**Mandal et al.**, 2009).

Ces sont des antioxydants essentiels pour l'homme dont les apports peuvent prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant. Il existe de nombreux autres composés parmi lesquelles certains sont regroupées dans le grand groupe des polyphénols.

Bien que non essentielles, ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant (**Curtay and Robin**, 2000).

2.3. Les composés phénoliques :

2.3.1. Généralités :

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (**Macheix et al.**, 2005).

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits «secondaires» dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert**, 1989).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques (**Macheix et al.**, 2005).

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.

Les composés phénoliques (ou polyphénols) sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire. Les polyphénols constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à l'année 2000. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques, la tyrosine et surtout la phénylamine. Ces acides aminés sont formés de façons variables suivant les végétaux, à partir du préphénate (**Guignard**, 2000), lui-même formé par la voie de l'acide shikimique (**Macheix et al.**, 2005).

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C₆), le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation, ...) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipides, protéines, autres métabolites). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés : les acides hydroxy-cinnamiques et les flavonoïdes. Les formes complexes quant à elles, sont pour la plupart issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autre, les tannins et les lignines

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, 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 (**Macheix et al.**, 2005).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (**Macheix et al.**, 2005).

2.3.2. Biosynthèse des composés phénoliques :

A / La voie de shikimate:

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques (Fig.17), elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Kening et al.**, 1995).

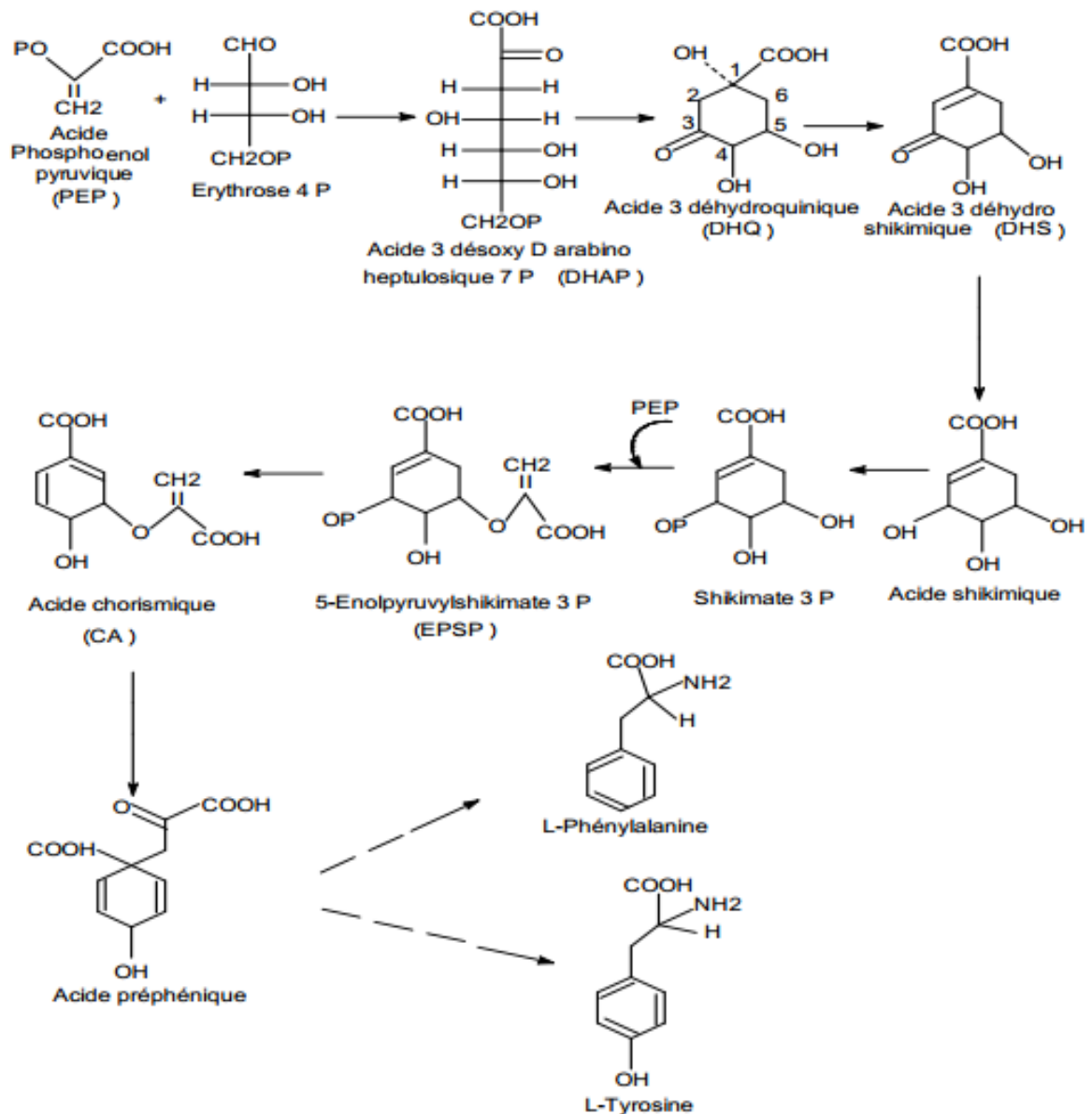


Figure 17 : La voie de shikimate (Floss, 1997)

B/ La voie de phénylpropanoïde:

La voie de phénylpropanoïde (Fig.18) commence par la phénylalanine. Sous l'action de la phénylalanine ammonia liase (PAL), la phénylalanine libère un ion ammonium et forme de l'acide cinnamique. Celui-ci est à son tour hydroxylé par la Cinnamate 4 Hydroxylase pour former l'acide para-coumarique 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.

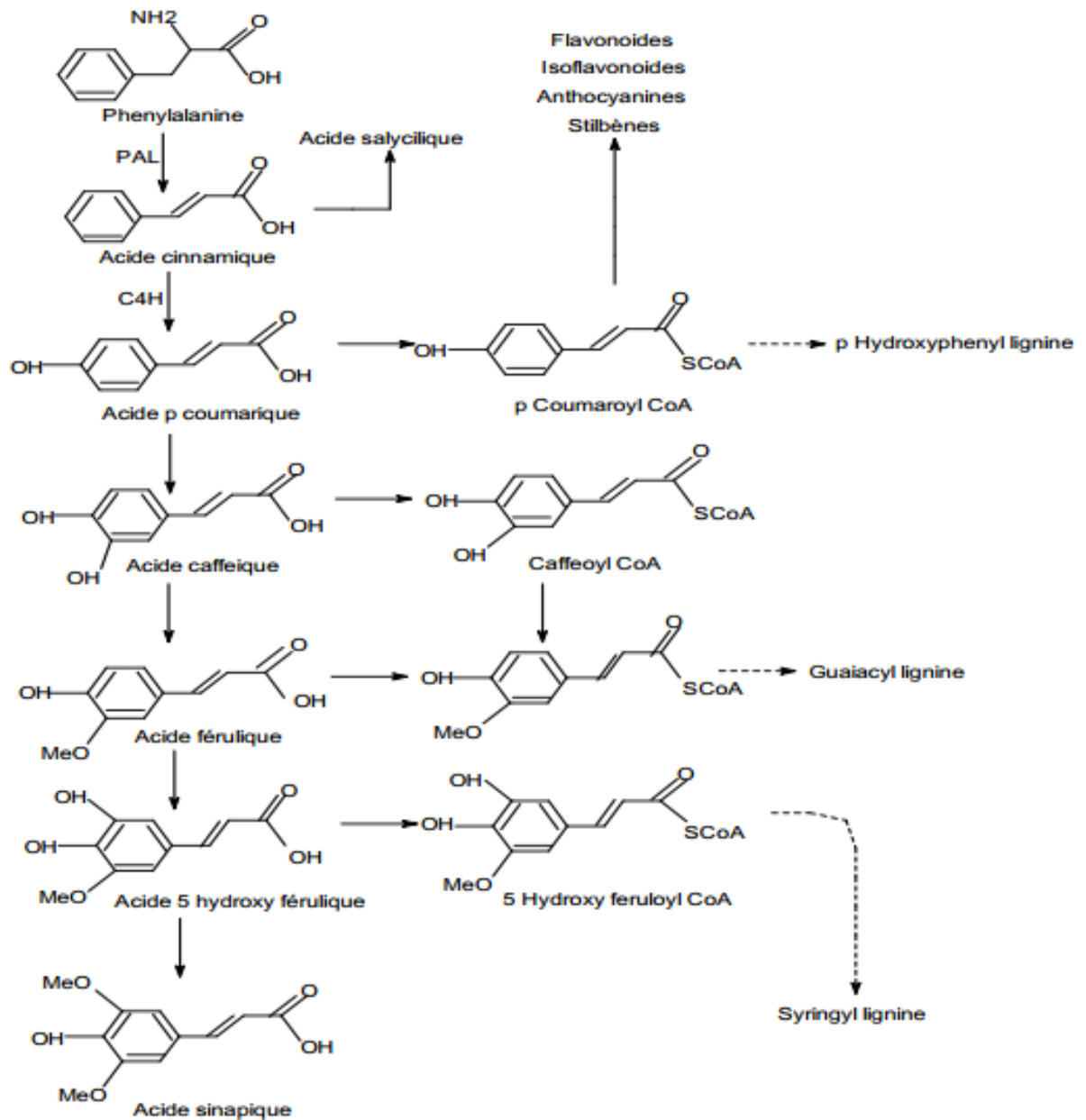


Figure 18 : La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann *et al.*, 2004)

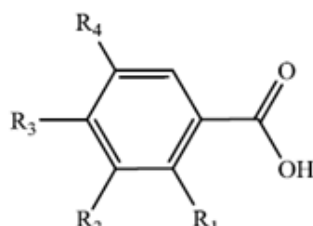
2.3.3. Principales classes des composés phénoliques:

2.3.3.1. Les non flavonoïdes :

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones.

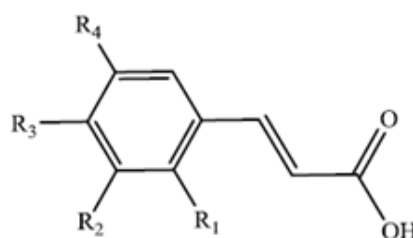
➤ Les acides phénoliques :

On distingue deux principales classes d'acide phénolique; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (tableau 2). La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (Macheix *et al.*, 2005).

Tableau 2: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado & Cheynier, 2006)


Structure générale d'un acide hydroxybenzoïque : un noyau benzénique substitué en positions 1, 2, 3 et 4 par des groupes R₁, R₂, R₃ et R₄ respectivement, avec un groupe carboxyle (-COOH) en position 1.

Composés	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Ac. benzoïque	H	H	H	H
Ac. salicylique	OH	H	H	H
Ac. p-hydroxy-benzoïque	H	H	OH	H
Ac. gallique	H	OH	OH	OH
Ac. protocatéchuique	H	OH	OH	H

Tableau 3 : Principaux acides cinnamiques (Sarni-Manchado & Cheynier, 2006)


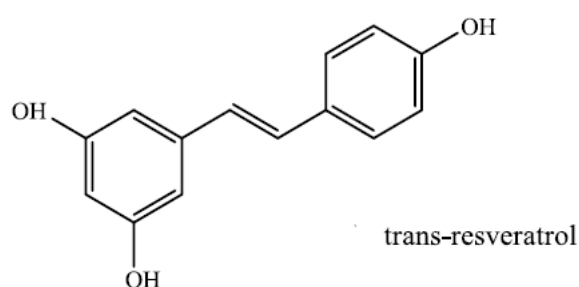
Structure générale d'un acide cinnamique : un noyau benzénique substitué en positions 1, 2, 3 et 4 par des groupes R₁, R₂, R₃ et R₄ respectivement, avec un groupe propénoïque (-CH=CH-COOH) en position 1.

Composés	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Ac. cinnamique	H	H	H	H
Ac. o-coumarique	OH	H	H	H
Ac. m-coumarique	H	OH	H	H
Ac. p-coumarique	H	H	OH	H
Ac. caféique	H	OH	OH	H

Dérivés de l'acide cinnamique formule générale

➤ Les stilbènes:

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resveratrol (Fig. 19).

**Figure 19 :** Trans-resveratrol : le principal type des stilbènes (Macheix *et al.*, 2005)

➤ Les lignanes et les lignines:

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines. Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C₆-C₃)₂; l'unité (C₆ - C₃) est considérée comme un propylbenzène.

Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C-8 des chaînes latérales

propényles de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison (C₈-C₈), les métabolites résultants portent le nom de lignane. Le terme néolignane est employé pour définir toutes les autres types de liaison. Lorsqu'il n'y a pas de liaison directe (C-C) entre les unités (C₆-C₃) mais liés par un atome d'oxygène d'éther, le composé est appelé oxynéolignane. Il existe d'autres types de lignanes tels que les sesquidéolignanes (ayant trois unités (C₆-C₃)) et les dioléolignanes (contenant quatre unités de (C₆-C₃) (**Stalika**, 2007). Les lignanes se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux (**Macheix et al.**, 2005). Les lignanes matairesinol, secoisolariciresinol et d'autres auraient été détectés dans le vin rouge obtenu à partir des raisins des vignes appartenant à la famille des Vitacées mais le néolignames biphényles sont isolés de *Magnolia officinalis* (**Nurmi et al.**, 2003) et les oxynéolignanes, de *Bursera tonkinensis* de la famille des Burcéracées (**Fukuyama et al.**, 1996).

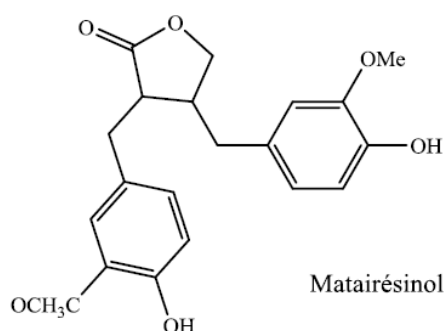


Figure 20 : Structure des principaux types des lignanes (**Stalika**, 2007).

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique (**Jutiviboonsuk et al.**, 2005).

➤ Les coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Fig. 21: a). Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes. Dans les plantes, on les rencontre chez les Apiacées, les Astéracées, les Fabacées, les Rosacées, les Rubiacées, les Rutacées et les Solanacées. Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples (Fig. 21 : b, c) avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines (Fig. 21 : d), les pyranocoumarines (Fig. 21 : b-f), les coumarines substitués en position 3 et/ou 4 (Fig. 21 : e, f). Le dernier groupe serait celui des dimères (**Sakagami et al.**, 2005).

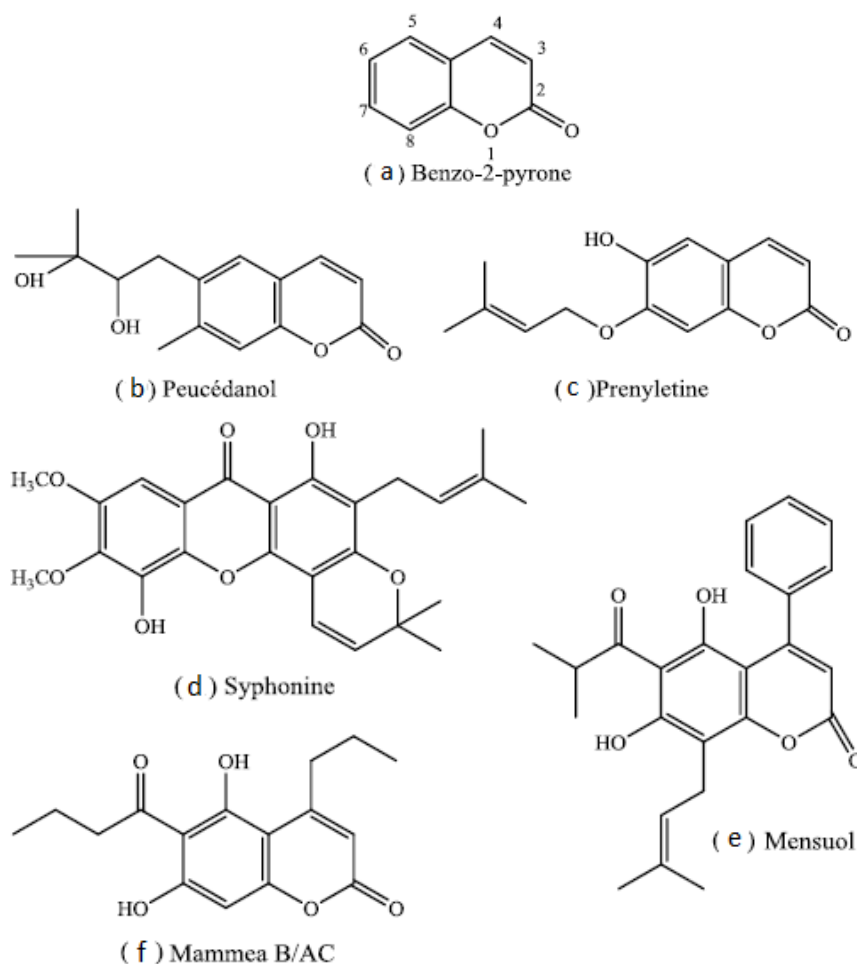


Figure 21 : Structure de base et les principaux types des coumarines (Sakagami *et al.*, 2005).

➤ Les xanthones

C'est une famille constituée des composés polyphénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes répondant à une structure de base (C₆-C₁-C₆). Quelques exemples de ces composés sont représentés ci-dessous (Fig 22): le gaboxanthone (a), le xanthène-9-one (b) et le globuliférine (c).

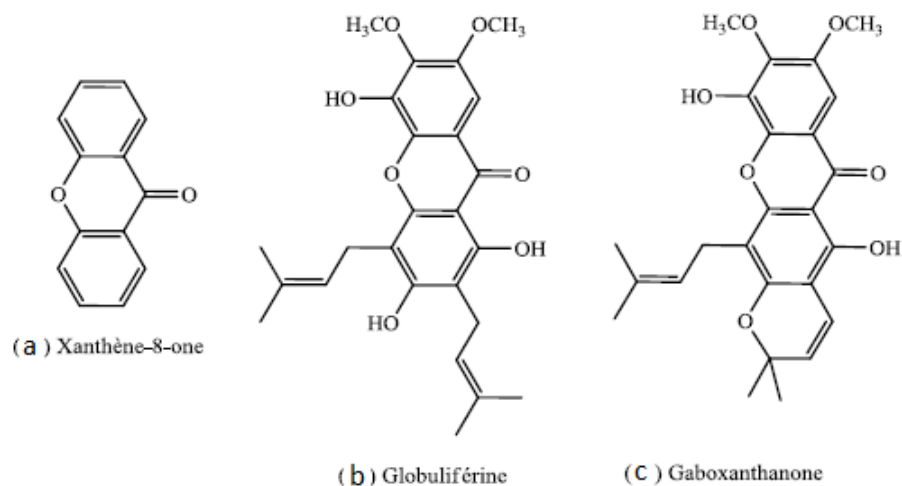


Figure 22 : Structure de Quelques exemples de Xanthones (Purev *et al.*, 2002).

2.3.3.2. Les flavonoïdes :

2.3.3.2.1. Généralité :

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Piquemal**, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune en latin) (**Karaali et al.**, 2004 ; **Malešev et Kuntić**, 2007).

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. A ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été décrits. On estime que 2 % environ du carbone organique photosynthétisé par les plantes, soit quelques 10^9 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**Agrawal et Markham**, 1989).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique **Chervreul** en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par **Szent-Györgyui**, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (**Nijveldt et al.**, 2001).

2.3.3.2.2. Structure :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Erdman et al.**, 2007). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C₆-C₃-C₆ (**Emerenciano et al.**, 2007) en formant une structure de type diphenylepropane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (**Narayana**, 2001; **Malešev et Kuntić**, 2007) (Fig. 23).

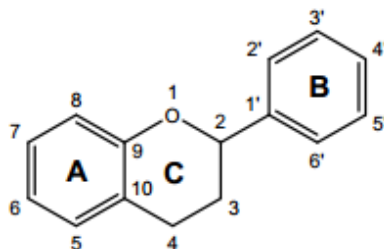


Figure 23 : Structure de base des flavonoïdes (**Malešev et Kuntić**, 2007).

2.3.3.2.3. Biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-Coenzyme A (malonyl - CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate *via* la phénylalanine qui est convertie en *p*-coumarate puis en *p*-coumaroyl- CoA (Fig. 24).

Le *p*-coumaroyl-CoA et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S) -flavanone : La naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Heller et Forkmann, 1993**).

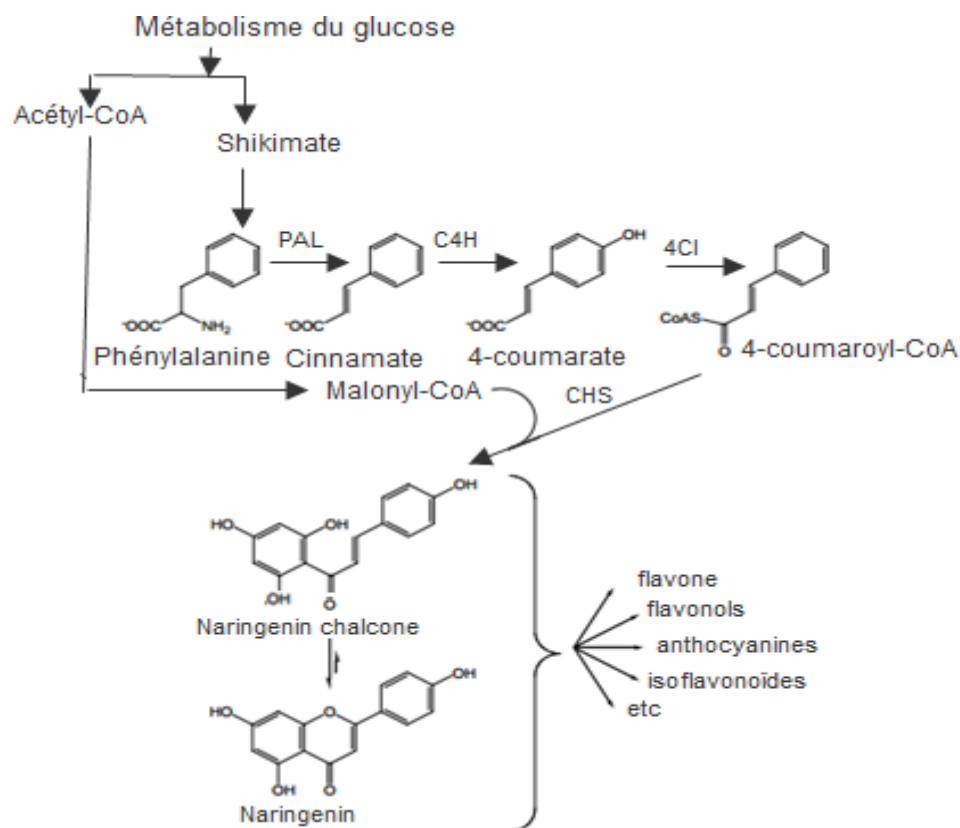


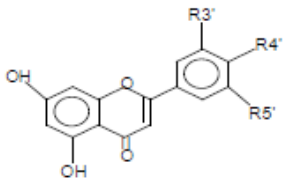
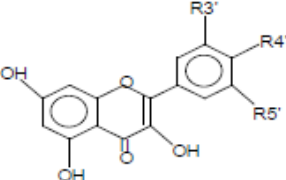
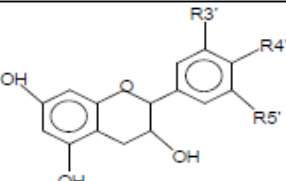
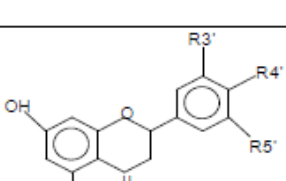
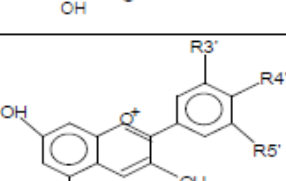
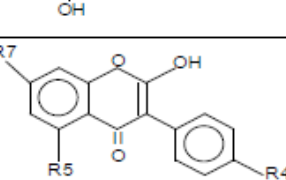
Figure 24 : Etapes communes de la biosynthèse de tous les flavonoïdes (**Fiorucci, 2006**).

2.3.3.2.4. Classification des flavonoïdes :

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B. Parmi les nombreuses classes

de flavonoïdes présentées dans la tableau 4, nous citerons les principales : anthocyanes, flavanols, flavones, flavanones, isoflavones et proanthocyanidols (Harborne, 1988).

Tableau 4: Principales classes des flavonoïdes (Erdman *et al.*,2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme C- ou O-glycosylés; les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les O-glycosides, de loin les plus fréquents, portent leurs substituants sur les groupements hydroxyles de la génine, alors que pour les C-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, les C-6 et /ou C-8. En effet, la

formation de la ou des liaison(s) hétérosidique(s) est sous la dépendance de transférases très spécifiques quant au substrat et à la position d'osylation (**Bruneton**, 1999).

Plus de 80 sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi eux, le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant, d'autres hexoses, le D-galactose et le D-mannose, ainsi que des pentoses, le D-xylose, le L-arabinose et le D-abiose sont fréquents avec le L-rhamnose (seul désoxyhexose) et des acides uroniques (le plus souvent l'acide D-glucuronique). On trouve également des disaccharides (une quarantaine dont les plus courants : le rutinose et le néohespéridose), des trisaccharides (environ 30 espèces) et quelques rares tétrasaccharides. Les sucres peuvent à leur tour être substitués par des groupements acyles tels que le malonate ou l'acétate (**Hollman** et **Arts**, 2000).

2.3.3.2.5. Distribution des flavonoïdes dans les plantes:

A de rares exceptions près [Quelques flavonoïdes ont été isolés d'un corail marin et d'un petit nombre de champignons (**Iwashina**, 2000)], seules les plantes ont la capacité de biosynthétiser des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophyle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines (**Bruneton**, 1999). Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines Cactaceae et plantes de régions arides (**Iwashina**, 2000). Il est à noter que flavanones et flavones sont souvent présentes dans la même plante. Flavones et flavonols ne se trouvent généralement pas ensemble, pas plus que flavanols et anthocyanes (**Merken** et **Beecher**, 2000).

La présence de composés flavonoïdiques a été rapportée chez les Bryophytes, les Ptéridophytes, les Gymnospermes et chez les Angiospermes (**Markham**, 1988). Cette distribution quasi ubiquitaire dans les plantes, alliée à leur relative stabilité, leur relative facilité d'identification et la forte tendance des plantes taxonomiquement proches à produire les mêmes types de flavonoïdes, ont fait des flavonoïdes des marqueurs chimio-taxonomiques de choix pour la classification végétale (**Cooper-Driver** et **Bhattacharya**, 1998 ; **Grayer et al.**, 1999).

2.3.3.2.6. Rôle des flavonoïdes dans la plante:

Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs. Par exemple, les couleurs orange, rouges et bleues des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits). De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines).

Ils sont impliqués dans les interactions plantes-microorganismes: dans les pathogénèses comme dans les symbioses (nodules des légumineuses). Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponses à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Di Carlo et al.**, 1999 ; **Pietta**, 2000).

2.3.3.2.7. Importance dans l'alimentation:

La contribution au régime alimentaire humain des flavonoïdes est très importante: de 50 à 800 mg/jour en fonction de la consommation de fruits et légumes mais aussi de boissons comme le thé ou le vin rouge (environ 200 mg par verre ou tasse) (**Pietta**, 2000). On trouve également des flavonoïdes dans de nombreuses plantes médicinales et des préparations à base de plantes contenant de flavonoïdes sont utilisées en médecine traditionnelle partout dans le monde (**Hollman et Arts**, 2000).

2.3.3.2.8. Propriétés chimiques et activités biologiques:

La propriété fondamentale des flavonoïdes est leur caractère antioxydant. A ce titre, ils agissent à plusieurs niveaux :

a- Inhibition d'enzymes ou chélation des éléments traces impliqués dans la formation de radicaux: suppression de la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS)

Les flavonoïdes inhibent la xanthine oxydase, source biologique importante du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). Ils sont également connus pour inhiber d'autres enzymes impliquées dans la génération de ROS telles que les cyclooxygénases, les lipooxygénases, ou les monooxygénases microsomiales (**Pietta**, 2000).

Le radical superoxyde réagit avec le peroxyde d'hydrogène (en présence de fer) pour donner par dismutation, des radicaux hydroxyles encore plus toxiques (OH^{\cdot}). C'est cette réaction, appelée réaction de Fenton, catalysée par le fer, qui est inhibée par certains

flavonoïdes (tels que la quercétine) par une action de chélation du fer (**Cuyckens** et **Claeys**, 2004).

b- Piégeage de radicaux

En raison de leur faible potentiel redox, les flavonoïdes peuvent réduire les radicaux libres très oxydés comme les superoxydes, les radicaux peroxydes ou les radicaux hydroxyles par transfert d'hydrogène (**Pietta**, 2000). L'oxyde nitrique qui forme, en se combinant avec le radical superoxyde, le très délétère peroxyde nitrite est également piégé par les flavonoïdes.

Le radical flavonoïde ainsi formé est stable et interrompt les événements de dégradation cellulaire initiés par l'attaque radicalaire (**Hollman** et **Katan**, 1997).

c- Autres activités biologiques :

Les radicaux seraient responsables d'altérations des acides nucléiques et des processus d'altérations d'initiations et de cancérisation ainsi que de dégradations cellulaires liées à leur réactivité avec les phospholipides membranaires (phénomènes de peroxydation). Ces dommages oxydatifs peuvent être impliqués dans de nombreuses affections : cancers, inflammations chroniques, athéroscléroses...

Ainsi, leur propriété de piègeurs de radicaux implique les flavonoïdes dans la prévention des dommages oxydatifs causés par les ROS sur les molécules cellulaires. De nombreuses études *in vitro* ont montré des activités des flavonoïdes contre les processus inflammatoires et, de ce fait, contre les maladies inflammatoires chroniques et l'arthrose. En empêchant les ROS d'altérer l'ADN, les flavonoïdes limitent les mutations et les processus de carcinogénèses (**Merken** et **Beecher**, 2000). De ce fait, ils sembleraient également intervenir dans la prévention de cancers, démences, athérosclérose, hypertension et maladies cardio-vasculaires.

Outre leur pouvoir antioxydant, certaines classes possèdent des potentialités oestrogéniques (isoflavones) et, plus généralement, les flavonoïdes sont utilisés pour toute une gamme d'activités pharmacologiques : pour préserver l'intégrité vasculaire, pour leurs propriétés immuno-modulatrices, anti-hépatotoxiques, anti-ostéoporotiques, pour leur actions antimicrobiennes et contre les allergies (**Sannomiya et al.**, 2005 ; **DeRijke et al.**, 2006); les flavonoïdes sont aussi connus pour leur action sur le tractus gastro-intestinal en tant qu'agents antiulcéreux, antispasmodiques, anti-sécréteurs et antidiarrhéiques (**Di Carlo et al.**, 1999).

Des articles de synthèse concernant leur mécanisme d'action (la relation structure-activité liée à la fonction antioxydante, notamment, a été établie (**Pietta**, 2000) et leurs utilisations thérapeutiques potentielles ont été publiées ces dernières années (**Di Carlo et al.**, 1999 ; **Hollman**, 2001). De nombreuses preuves ont été apportées sur l'importance des effets *in vitro* des flavonoïdes sur différents modèles biologiques et, en particulier, enzymatiques (**Hollman** et **Katan**, 1997). Cependant, le potentiel thérapeutique des flavonoïdes n'est pas encore établi à cause de la connaissance limitée de leur absorption chez l'homme (**Hollman** et **Katan**, 1997). La biodisponibilité des flavonoïdes étant en général assez faible chez l'homme (**Bruneton**, 1999), il est nécessaire d'être prudent quant à l'extrapolation des données *in vitro*.

A l'heure actuelle, le lien entre consommation de flavonoïdes et prévention de cancer est encore faible. Aucune étude épidémiologique n'a encore apporté la preuve que ce sont les flavonoïdes contenus dans les fruits, les légumes et les boissons comme le thé ou le vin rouge qui sont responsables de l'effet protecteur de ces aliments. A l'inverse, plusieurs études ont démontré que la consommation d'aliments riches en flavonoïdes est inversement corrélée au risque de développer des maladies cardiovasculaires (**Pietta**, 2000 ; **Hollman**, 2001).

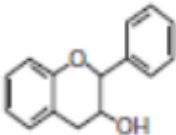
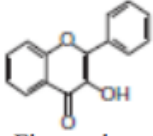
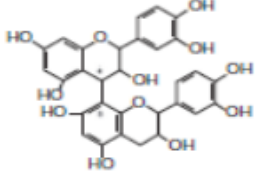
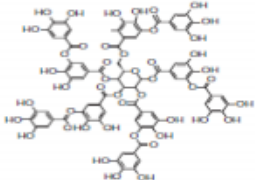
En raison de leur abondance dans les plantes consommées par l'homme et de leurs bénéfices potentiels pour la santé humaine, les flavonoïdes sont l'objet d'une attention croissante. Que ce soit pour l'étude des relations structure-activité, le contrôle de la qualité alimentaire ou le suivi de l'absorption et de la métabolisation de ces composés phénoliques naturels, il est nécessaire de disposer d'une méthode rapide et fiable d'analyse et d'identification de ces molécules dans les plantes et les systèmes biologiques. Parmi les méthodes envisageables, nous avons choisi de présenter la spectrométrie de masse (**Lhuillier**, 2007)

2.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales (tab. 5). Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan**, 1999). Il a été aussi rapporté que

plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert, 1991).

Tableau 5 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2011).

Composés phénoliques et leurs structures	Microorganismes sensibles	Exemples
 Flavane-3-ol	Bactéries	<i>V.cholerae</i> , <i>S.mutans</i> , <i>C.jejuni</i> , <i>C.perfringes</i> , <i>E.coli</i> , <i>B.Cereus</i> , <i>H.pylori</i> , <i>S.aureus</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>A.naeslundii</i> , <i>P.oralis</i> , <i>P.gingivalis</i> , <i>P.melaninogenica</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>C.pneumonia</i>
 Flavonole	Virus	Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.
	Champignons	<i>Candida albicans</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> .
 Tannins condensés	Bactéries	<i>S.mutans</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> .
	Virus	Virus de l'influenza A, type -1 herpes simplex virus (HSV).
 Tannins hydrolysables	Bactéries	Différentes souches de: <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E.coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Lysteria</i> .
	Virus	Le virus Epstein-Barr, les virus Herpes HSV-1 et HSV-2.
	Champignons	<i>Candida parapsilosis</i> .

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols (tab. 5), à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (Daglia, 2011). La quercétine et la naringénine sont rapportés être des inhibiteurs de *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* et *Saccharomyces cerevisiae* (Sandhar et al., 2011). En outre, la morine-3-Olyxoside, morine-3-O-arabinoside et la quercétine-3-O-arabinoside possèdent une action bactériostatique sur les bactéries pathogènes contaminant les

denrées alimentaires y compris *Bacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteric*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera*. Les flavonones ayant un groupement de sucre ont aussi montré une activité antimicrobienne, tandis que certaines flavonolignanes n'ont montré aucune activité inhibitrice envers les microorganismes (**Sandhar et al.**, 2011).

Les mécanismes responsables de la toxicité des polyphénols envers les microorganismes incluent l'inhibition enzymatique par les composés oxydés, probablement *via* la réaction avec les groupes sulfhydryle ou par les interactions non spécifiques avec les protéines (**Mason et Wasserman**, 1987). L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonoles est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires et exercer leurs effets antibactériens à l'intérieur de la cellule. La déstabilisation de la membrane cytoplasmique et la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc (*via* la propriété de chélation des métaux) sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidines dans l'inhibition des bactéries (**Daglia**, 2011).

CHAPITRE 3
MATÉRIEL & METHODS

3.1. Matériel végétal :

3.1.1. Choix des plantes :

Le choix des treize plantes utidiées (*Carduncellus pinnatus*; *Cotula cinerea*; *Thapsia garganica*; *Zygophyllum album*; *Rosmarinus officinallis*; *Convolvulus arvensis*; *Sabia officinallis*; *Osyris quadripartita*; *Quercus suber*; *Lavandula multifida* L.; *Cedrus atlantica*; *Crataegus oxyacantha*; *Périlpoca laevigata*) est basé sur une enquête ethno-pharmacologique auprès de la population ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle.

La récolte des différentes espèces a été effectuée dans le centre (Blida), l'Ouest (Relizane, Mostaganem, saida et Oran) et le Sud- Ouest de l'Algérie, dans différentes stations, à savoir : Chréa (Blida), Yazrou (Rlizane), Mostaganem ville, Madagh (Oran) El Rabahia (Saida), Béchar et Adrar (fig. 25 ; tab. 6).



Figure 25 : Situation géographique des stations de prélèvement des échantillons

(Encarta, 2009).

Tableau 6 : Lieux de récolte des plantes et caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude.

Plante	Station	Famille	Période de la récolte	Partie étudiée	Longitude	Latitude (Nord)	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>Carduncellus pinnatus</i>	Yazrou (Relizane)	<i>Astéracées</i>	Mars 2011	Racines	0° 39'E	35° 44'	98	Semi-aride
<i>Cotula cinerea</i>	Béchar	<i>Astéracées</i>	Mars 2011	Feuilles/ fleurs	2° 14'O	31° 38'	807	Saharien
<i>Thapsia garganica</i>	El rabahia (Saïda)	<i>Apiacées</i>	Avril 2011	Racines	0° 09'E	34° 50'	868	Semi-aride
<i>Zygophyllum album</i>	Béchar	<i>zygophyllacées</i>	Mars 2011	P. aérienne	2° 14'O	31° 38'	807	Saharien
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Mostaganem	<i>Lamiacées</i>	Avril 2011	P. aérienne	0° 05'E	35° 56'	104	Semi-aride
<i>Convolvulus arvensis</i>	Mostaganem	<i>Convolvulacées</i>	Mai 2011	Racines	0° 05'E	35° 56'	104	Semi-aride
<i>Salvia officinalis</i>	Mostaganem	<i>Lamiacées</i>	Avril 2011	P. aérienne	0° 05'E	35° 56'	104	Semi-aride
<i>Osyris quadriparita</i>	Béchar	<i>Santalacées</i>	Mars 2011	P. aérienne	2° 14'O	31° 38'	807	Saharien
<i>Quercus suber</i>	Chrea (Blida)	<i>Fagacées</i>	Mars 2011	Feuilles/ Tiges	2° 52'E	36° 25'	1927	Subhumide
<i>Lavandula multifida</i>	Motaganem	<i>Lamiacées</i>	Avril 2011	P. aérienne	0° 05'E	35° 56'	104	Semi-aride
<i>Cèdrus atlantica</i>	Chrea (Blida)	<i>Pinacées</i>	Mars 2011	Feuilles	2° 52'E	36° 25'	1927	Subhumide
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Chrea (Blida)	<i>Rosacées</i>	Mars 2011	P. aérienne	2° 52'E	36° 25'	1927	Subhumide
<i>Péríploca laevigata</i>	Madagh (Oran)	<i>Asclepiadacées</i>	Mai 2011	P. aérienne	1° 04'O	35° 37'	74	Semi-aride

3.1.2. Récolte du matériel végétal :

L'analyse des propriétés antioxydantes a été réalisée pour les extraits de 13 plantes. La récolte de ces plantes a été effectuée durant la période du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2011 de différentes régions de l'Algérie (Relizane, Mostaganem, Bechar, Saida, Blida).

3.2. Techniques utilisées

Dans cette partie expérimentale, trois axes ont été envisagés :

- Le premier axe concerne l'extraction des composés phénoliques par le méthanol suivi par la quantification des teneurs de ces composés. Les dosages obtenus exprimés en mg/g sont déterminés en utilisant les réactifs suivants : le Folin-Ciocalteu pour les polyphénols, le trichlorure d'alumine pour les flavonoïdes.
- Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés par le pouvoir antioxydant des extraits des plantes étudiées. Trois méthodes complémentaires ont été choisies :
 - Méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) (**Sanchez- Moreno et al.**, 1998) est la plus simple à réaliser *in vitro*. Le DPPH est largement employé pour évaluer le balayage de divers produits naturels et considéré comme un composé modèle pour les radicaux libres produits dans la peroxydation lipidique.
 - Réduction de radical libre DPPH par bioautographie (**Dominguez et al.**, 2005).
 - Méthode de réduction de fer (**Oyaizu**, 1986) est une technique indicatrice de la présence des effets réductives de l'anion hexacyanoférate (III) $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à l'anion hexacyanoférate (II) $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$.
- Le troisième axe concerne l'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos extraits méthanolique en utilisant la méthode par diffusion des disques (**Gachkar et al.**, 2007; **Mayachiew et Devahastin**, 2008; **Hussain et al.**, 2010).

3.2.1. Préparation des échantillons pour l'extraction :

Tous les essais qui suivent ont porté sur du matériel séché à l'air libre, à l'abri de la lumière. Le matériel végétal a été ensuite finement broyé à l'aide d'un moulin à couteaux ou à l'aide d'un broyeur à bille afin de permettre une bonne extraction. Les poudres des échantillons préparés sont ensuite, conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. La conservation se fait dans des flacons hermétiques au réfrigérateur. Toutes ces opérations permettent de pallier à la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités enzymatiques de leur dénaturation (**Benamar**, 2008).

3.2.2. Extraction :

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 (**Sahreem et al.**, 2010; **Xia et al.**, 2010; **Bouزيد et al.**, 2011) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (**Barros et al.**, 2010).

La méthode d'extraction consiste à porter l'échantillon (10% de poudre broyée) à ébullition sous reflux (fig. 26) en utilisant le Méthanol pendant 30 min avec trois extractions successives. Cette technique permet d'extraire les composés chimiques les plus polaires présents dans la plante étudiée. Les trois extraits obtenus sont filtrés à l'aide du filtre de papier plissé, réunis, et posés l'extrait de chaque échantillon dans des fioles.

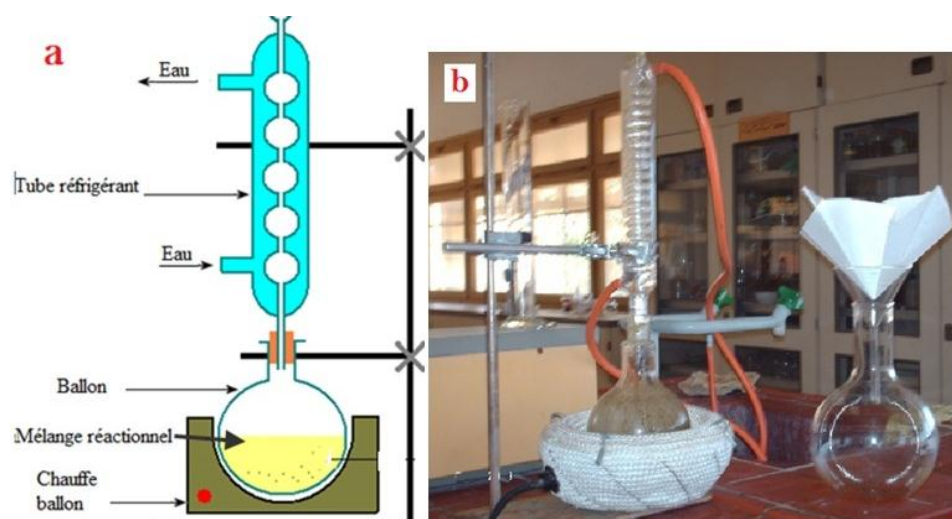


Figure 26 : a- Schéma de dispositif de l'extraction sous reflux ;
b- Dispositif de l'extraction sous reflux.

Les extraits sont ensuite concentrés et séchés à l'aide d'un Rota vapeur (fig. 27) afin d'éliminer toute trace de Méthanol, pour obtenir une poudre végétale sèche.



Figure 27 : Rota vapeur utilisé pour le séchage des échantillons après l'extraction

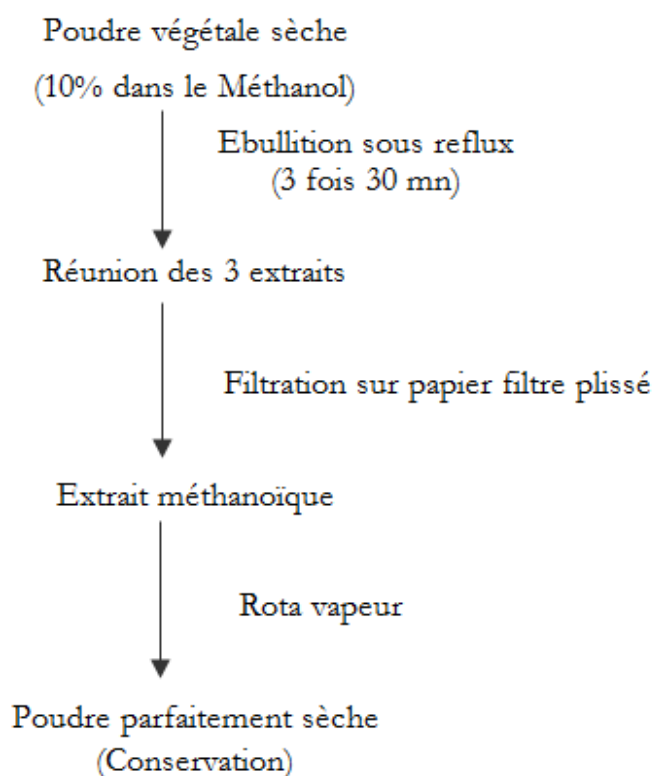


Figure 28 : Protocole d'extraction des composées phénoliques

3.2.3. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes :

3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

3.2.3.1.1. Principe :

La teneur en composés phénoliques des différents extraits a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li *et al.*, 2008) qui est basé sur la réduction de la mixture phosphotungstique, phosphomolybdique du réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présent dans l'échantillon (Georgé *et al.*, 2005).

3.2.3.1.2. Dosage :

L'analyse quantitative des polyphénols totaux est réalisée par le dosage spectrophotométrique selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999 ; Heilerova *et al.*, 2003):

Dans des tubes à essai, on additionne à 100µl d'extrait méthanolique (dissous dans le MéOH à une concentration de 2 mg/ml) 500 µL de folin ciocalteu (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. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre UV-Visible (PRIM SECOMAM) (fig. 29) à 765 nm.



Figure 29 : Spectrophotomètre utilisé pour la lecture d'absorbance

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ghazi et Sahraoui**, 2005).

Cette technique à double faisceaux nous a aidés à éliminer l'absorbance du blanc et donner directement la densité optique de l'échantillon. Pour s'assurer que les résultats sont fiables, les dosages ont été réalisés en triplicata, après on a calculé la moyenne des densités optique mesurées.

La quantification des polyphénols a été fait au moyen d'une courbe d'étalonnage réalisée à l'aide de différentes concentrations d'acide gallique (*Fluka*) (4,76 - 9,52 - 14,2 - 19 et 23,8 µl/ml, concentrations finales) 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 résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait méthanolique. Ils représentent la moyenne de 2 à 3 répétitions.

Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau distillée, dans les mêmes conditions.

3.2.3.2. 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 (dissout 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 = 5min 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. Les dosages ont été réalisés en triplicata. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre UV- Visible (PRIM SECOMAM) à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée par différentes concentrations (0,1-0,2-0,3-0,4-0,5 µg/ml, concentration finales) de la quercitine à partir d'une solution mère à 1mg/ml (dissout dans le MéOH). Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent de la quercitine par g d'extrait. Elle représente la moyenne de 3 répétitions.

Le blanc est préparé en remplaçant la quantité de l'extrait méthanolique par l'eau distillée, dans les mêmes conditions.

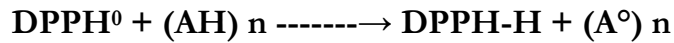
3.2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques :

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extrais méthanoliques a été réalisée par trois techniques chimiques à savoir : réduction de radical libre DPPH par Bioautographie, le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP).

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

3.2.4.1.1. Principe du test :

L'activité antiradicalaire des extraits a été testée par l'utilisation du radical DPPH (méthode de Blois (1958) avec quelques modifications). Le DPPH, 2,2-diphényl (1-1) picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$; est un radical libre stable soluble dans le méthanol, d'une couleur violette intense, il présente un maximum absorbance à 517 nm. Lorsque une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle, selon la réaction suivante (Pokorny *et al.*, 2001 ; Roginsky et Lissi, 2005).



Où (AH) _n : représente une molécule capable de réduire (céder un atome d'hydrogène au radical DPPH[•]), le radical DPPH-H violet au DPPH-H (DPPH réduit) d'une couleur jaune pâle (fig. 30)

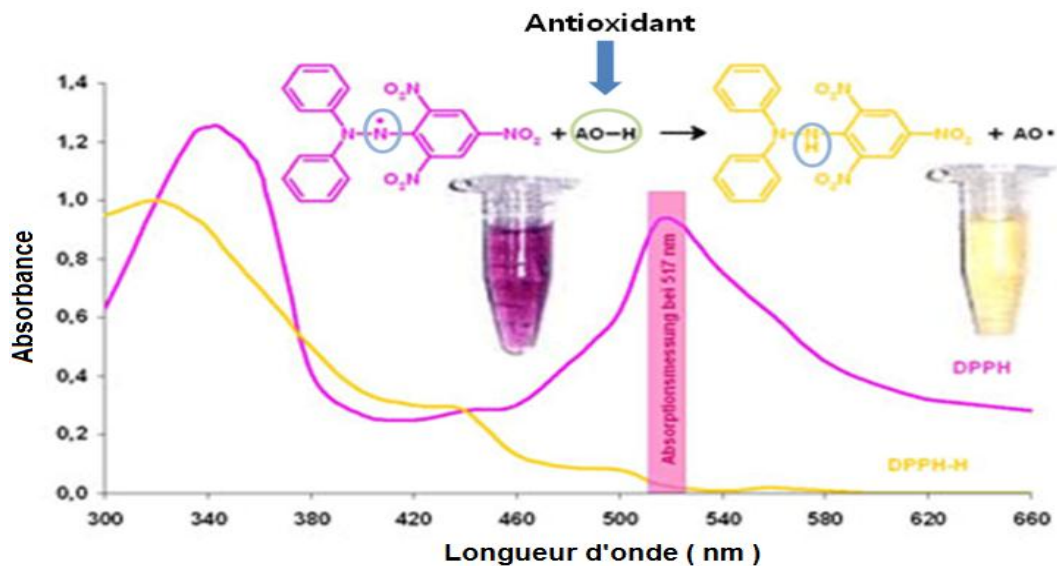


Figure 30 : Structure de 2-2 Diphényl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite (Dangles *et al.*, 2000).

Le test peut s'effectuer par :

- Bioautographie sur des plaques CCM en utilisant le DPPH comme révélateur (identification qualitative).
- Ou par un dosage spectrophotométrie (test quantitatif)

3.2.4.1.2. Réduction de radical libre DPPH par bioautographie:

Les extraits méthanoliques ont été déposés à la même concentration (50 µg) sur des plaques de couche mince de gel de silice F254 (*Merk*) sur support d'aluminium, puis séparés à l'aide du système de solvants suivant : chloroforme - acide acétique – acide formique – eau distillée (100 : 11 : 11 : 26) après développement et séchage ; les plaques sont pulvérisées à l'aide d'une solution de DPPH à 0.2 % dans le méthanol ensuite, elles sont examinées après 30 mn à l'œil nu (**Dominguez et al.**, 2005).

3.2.4.1.3. Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie :

Cette méthode concerne uniquement les extraits ayant montré une activité antiradicalaire par bioautographie. L'activité antioxydante des extraits *in vitro* a été testée selon la méthode de **Blois** (1958) avec quelques modifications.

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 6.10^{-5} M.

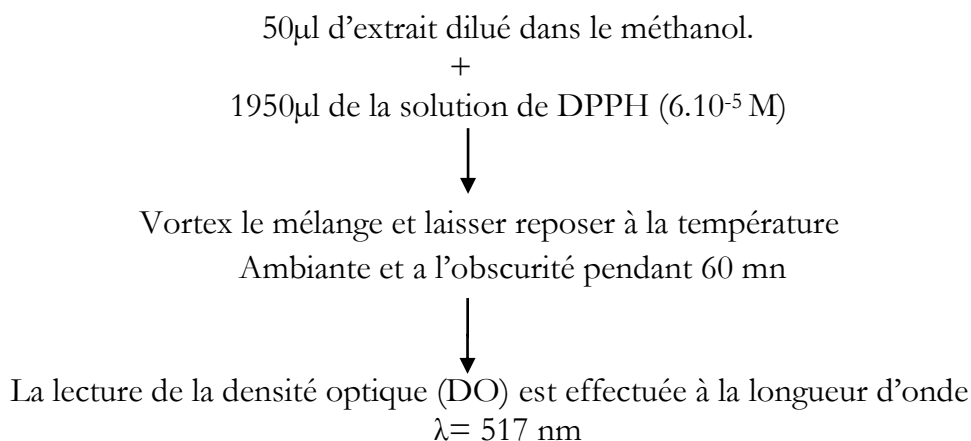
➤ **Préparation des extraits :**

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 6.10^{-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, la quercétine ainsi que le BHA (Butyl-hydroxyanisole) sont utilisés comme témoins positifs.

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

$$IP = [(A \text{ témoin } (-) - A \text{ témoin extrait}) / A \text{ témoin } (-)] \times 100$$

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.

3.2.4.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotométrie à 700 nm.

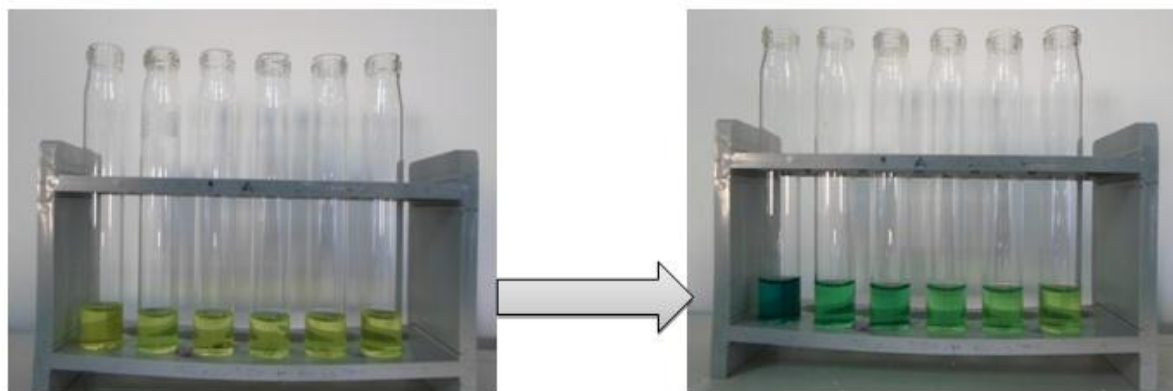


Figure 31 : Réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+})

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Yildirim et al.** (2001) où : 0.5 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1.25 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tr/mn pendant 10 min. 1.25 ml du surnageant sont ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 μl d'une solution de chlorure de fer ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à 0.1%.

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (voir annexe 3).

3.2.5. L'évaluation de l'activité antimicrobienne :

3.2.5.1. Méthode par diffusion des disques :

3.2.5.1.1. Choix des souches bactériennes :

L'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques a été évaluée sur plusieurs souches bactériennes (tab. 7) : qui proviennent de l'American Type Culture Collection ATCC : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* 14579, cette dernière provienne de l'Institut Pasteur d'Alger.

Tableau 7 : les souches microbiennes testées :

Etat frais	Souches	Gram
Bacille	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>Bacillus cereus</i> 14579	Négatif
Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positif
Levure	<i>Candida albicans</i>	

3.2.5.1.2. Choix des milieux de culture :

Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne pour les bactéries est l'Agar de Muller Hinton (AMH) parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (**Gachkar et al.**, 2007; **Mayachiew et Devahastin**, 2008 ; **Hussain et al.**, 2010) par contre en utilisée le milieu Sabouraud pour la levure (*Candida albicans*).

3.2.5.1.3. Préparation des suspensions bactériennes :

Une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures). Cette opacité, équivalente à une densité optique de 10^8 UFC /ml et 10^6 UFC/ml (Unit Forming Colony/ml) à 625 nm et 620 nm pour les bactéries et la levure respectivement, peut être diminuée (ou augmentée) en ajoutant plus de culture afin d'ajuster la densité optique (DO).

• **Ensemencement :**

Les géloses de Mueller Hinton et Sabouraud ont été coulées dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm puis laisse solidifiées. A l'aide d'une micropipette ensemencer les milieux de culture à partir de 10 µl de différentes suspensions bactériennes.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de 6mm de diamètre de papier Wattman N°1 (7 disques/boîte) sont imbibés par 10 µL de chaque extrait méthanolique puis déposés sur le milieu d'agar.

Les boîtes sont maintenues à température ambiante pendant 2h pour que l'extrait méthanolique puisse diffuser. (Rožman et Jeršek, 2009).

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

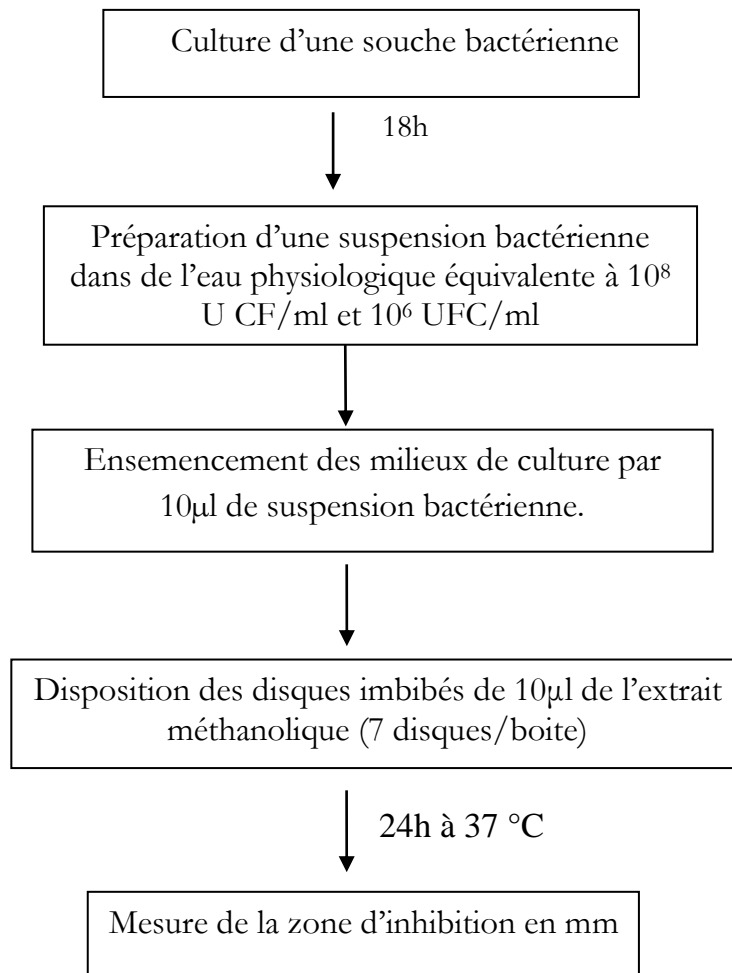


Figure 32 : Protocol de l'évaluation de l'activité antimicrobienne

3.2.6. Analyse statistique :

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard (Means \pm standard error (S.E.M) calculé sur la moyenne de trois expériences pour chaque cas (le calcul est réalisé à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007).

Les données expérimentales sont présentées sous formes d'histogrammes pour les quantités des flavonoïdes et des polyphénols totaux et pour les IC₅₀ et sous forme de courbes pour les étalons (acide gallique et le quercitine).

Les coefficients de corrélation R² entre les DO et les concentrations des étalons est calculé à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007.

Les résultats des tests de prolifération, la détermination du pouvoir anti-radicalaire et le dosage des polyphénols ont été effectués en triplicatas. L'estimation des polyphénols totaux est exprimée en mg d'équivalent acide gallique. La corrélation entre l'activité antiradicalaire et les phénols totaux des échantillons est réalisée par une régression linéaire.

CHAPITRE 4 :
RESULTATS & DISCUSSION

Plusieurs antioxydants de synthèse tels que le BHT et le BHA sont largement utilisés comme additifs alimentaires pour prévenir la détérioration des aliments. Bien que ces antioxydants synthétiques montrent une activité antioxydante plus puissante que celle des antioxydants naturels comme l'acide ascorbique et l' α -tocophérol (**Bougatef et al.**, 2009), il y a une préoccupation concernant leurs effets néfastes sur la santé, car ils peuvent être impliqués dans les dommages hépatiques et la carcinogénèse (**Gulcin et al.**, 2005).

De même, le traitement par les antibiotiques classiques est associé à plusieurs effets indésirables tel que l'augmentation du risque de saignement associé au linézolide, l'émergence importante d'espèces bactériennes résistantes ainsi que les inconvénients associés au traitement avec les antibiotiques incompatibles avec l'administration externe du patient comme le prolongement du séjour à l'hôpital et l'exposition aux infections nosocomiales (**Song**, 2008).

Ce sont les raisons pour lesquelles, la recherche scientifique s'est focalisée récemment sur l'investigation de nouveaux agents antioxydants et antibactériens d'origine végétale particulièrement les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes et tannins) qui peuvent être des alternatives aux substances synthétiques (**Bougatef et al.**, 2009). Dans ce cadre s'inscrit ce travail qui consiste à tester les activités antioxydantes et l'activité antibactérienne de quelques plantes médicinales locales.

4.1. 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 (fig.33 et 35) ont été tracées pour cet objectif: la première réalisée avec l'acide gallique (pour les polyphénols totaux) à différentes concentrations, l'autre avec la catéchine (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 : $y = a x + b$.

4.1.1. Teneurs en polyphénols totaux :

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 ($y = 45,71x + 0,0086$) et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (fig. 33).

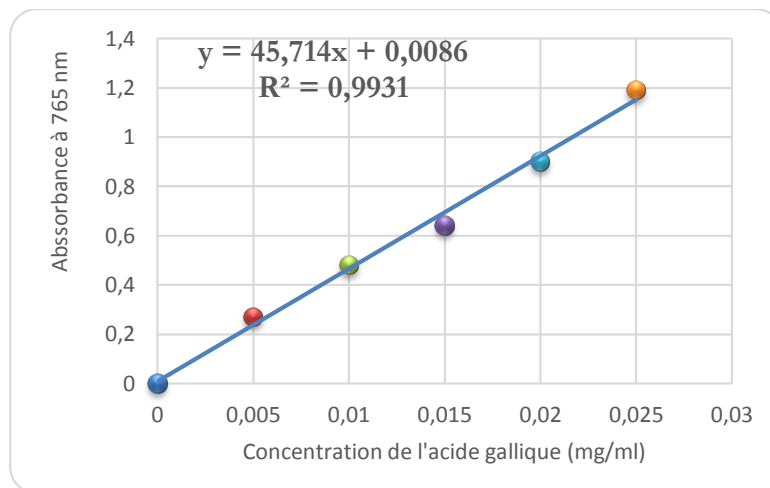


Figure 33 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux réalisée à l'aide de l'acide gallique.

Selon la figure 34 et le tableau 8, 38,46 % des extraits méthanoliques montrent des quantités élevées, 34,76 % montrent des quantités moyennes et 34,76 % montrent des quantités faibles. Les teneurs en polyphénols enregistrées, montrent des quantités allant de $27,30 \pm 0,06$ jusqu'à $462 \pm 0,28$ mg/g.

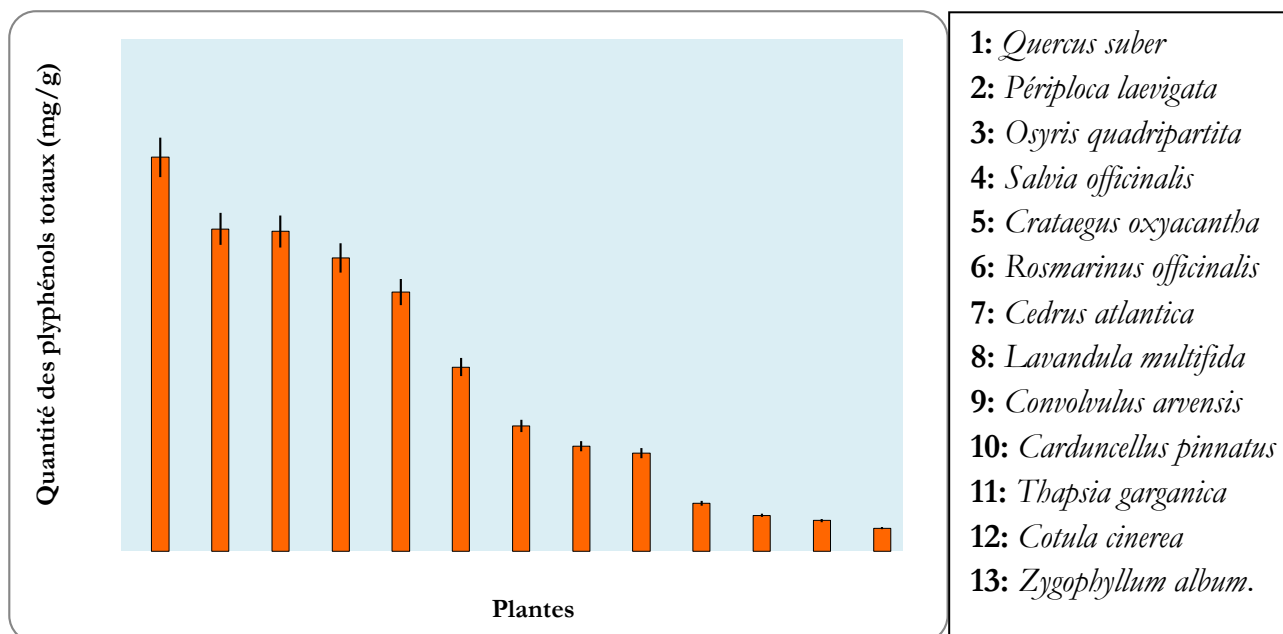


Figure 34 : Histogramme représentant la quantité des polyphénols totaux par ordre décroissant, exprimée en mg/g de poudre d'extrait méthanolique. Les valeurs sont exprimées en (dm) ± erreur standard calculée sur la moyenne (n = 3).

Quercus suber, *Péríploca laevigata*, *Osyris quadripartita* présentent des teneurs les plus élevées en polyphénols totaux (462 ± 0.28 , 378 ± 0.23 , 375.90 ± 0.02 mg/g), par contre les plus faibles quantités ont été enregistrées chez *Zygophyllum album*, *Cotula cinerea*, *Thapsia garganica* (27.30 ± 0.06 - 36.75 ± 0.12 , 42 ± 0.14 mg/g) (tab.8).

Tableau 8 : Les valeurs des teneurs en polyphénols (mg / g MS) de 13 extraits de plantes ou parties des plantes testées

Espèce	Famille	Partie utilisée	Teneur en Polyphénols (mg/g MS)
<i>Carduncellus pinnatus</i>	Astéracées	Racines	56.70 ± 0.21
<i>Cotula cinerea</i>	Astéracées	feuilles + fleurs	36.75 ± 0.12
<i>Thapsia garganica</i>	Apiacées	Racines	42 ± 0.14
<i>Zygophyllum album</i>	Zygophyllacées	Partie aérienne	27.30 ± 0.06
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiacées	Partie aérienne	216.30 ± 0.50
<i>Convolvulus arvensis</i>	Convolvulacées	Racines	115.50 ± 0.04
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiacées	Partie aérienne	344.88 ± 0.02
<i>Osyris quadripartita</i>	Santalacées	Partie aérienne	375.90 ± 0.02
<i>Quercus suber</i>	Fagacées	Feuilles + Tiges	462 ± 0.28
<i>Lavandula multifida</i>	Lamiacées	Partie aérienne	123.90 ± 0.71
<i>Cedrus atlantica</i>	Pinacées	Feuilles	147 ± 0.04
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Rosacées	Partie aérienne	304.50 ± 0.47
<i>Péríploca laevigata</i>	Asclepiadacées	Partie aérienne	378 ± 0.23

Les espèces les plus riche en polyphénols (*Quercus suber*, *Péríploca laevigata*, *Osyris quadripartita*), selon nos résultats obtenus sont accord avec les travaux de **Rached** (2009), tandis que les faibles quantités obtenues en polyphénols sont similaire à celles trouvées par **Khacheba** (2008) pour les espèces (*Thapsia garganica*: 8.10mg/g, *Zygophyllum album* : 43.08 mg/g) et par **Benhammou** (2012) (*Cotula cinerea*: 22.22 ± 0.41 mg/g, *Zygophyllum album*: 6.92 ± 0.62 mg/g).

La quantité des polyphénols totaux estimée chez *Quercus suber* (462 ± 0.28 mg/g) est très intéressante en comparaison avec des études qui ont été réalisées sur une centaine de plantes médicinales, le taux en polyphénols totaux le plus élevé est enregistré chez *Osyris quadripartita* Salzm avec 462 ± 0.28 mg/g (**Benamar**, 2008) et chez *Acacia catechu* Willd avec 414,7 mg/g (**Surveswaran et al.**, 2007).

Les composés phénoliques sont des constituants très importants de la plantes à cause de leur capacité de piégeage des radicaux libres et de leur forte inhibition de la peroxydation lipidique (**Pokorny et al.**, 2001).

En effet, la teneur des phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et entre les espèces du même genre, ce qui est le cas dans notre étude. **Miliauskas et al.** (2004) ont trouvé des teneurs différentes pour 4 espèces de *Salvia*, dont les valeurs sont comprises entre $9,7 \pm 0,4$ et $24 \pm 1,1$ mg/g d'extrait.

Le même cas est signalé par **Casio et al.** (2006), lors d'une étude effectuée sur plusieurs plantes de la famille des *lamiacées*.

De nombreuses études ont montrées clairement que les polyphénols possèdent des effets bénéfiques pour la santé, dus à leur activité antioxydante, antiallergique, antiviral, anticarcinogénique, anti-inflammatoire et à leur capacité pour la protection contre les maladies cardiovasculaires et la prévention contre le cancer (**Vicioli et al.**, 1998a,b ; **Di Carlo et al.**, 1999 ; **Andrikopoulos et al.**, 2002 ; **Fabiani et al.**, 2006). Les plantes qui ont montré une teneur très élevée en polyphénols telles que *Quercus suber*, *Péríploca laevigata*, *Osyris quadripartita*, *Salvia officinalis* et *Crataegus oxyacantha* constituent des sources potentielles pour l'extraction de ces phytoconstituants qui pourraient posséder différents vertus curatives.

4.1.2. Teneurs en flavonoïdes :

Concernant la teneur en flavonoïdes, 15,38% des extraits méthanoliques présentent des quantités très élevées, 30,76% présentent des quantités moyennes et 53,84% montrent des quantités faibles. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de catéchine par g de poudre sèche. Ces données sont récapitulées dans la figure 36 et le tableau 9.

Le taux le plus élevé e flavonoïdes a été enregistré chez *Quercus suber* ainsi que *Rosmarinus officinallis* L. (232.93 ± 1 - 190.42 ± 1.90 mg/g), par contre une faible quantité a été estimée chez *Cotula cinerea* et *Thapsia garganica* (11.23 ± 0.450 - 8.35 ± 0.32 mg/g) (tab. 9).

La teneur en flavonoïdes enregistrée chez le Romarin (232.93 ± 1 mg/g) l'une la plus élevée des deux extraits parmi tous les extraits étudiés. Cette quantité est largement supérieure à celle estimée chez trois espèces appartiennent au genre *Teucrium* (Lamiaceae)

(Panovsca *et al.*, 2005). Enfin le Romarin contient essentiellement des hétérosides du lutéolol, du diosmétol et des flavones méthoxylées en C₆ et/ ou en C₇ (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes et représentent un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques (Wirdel, 2003).

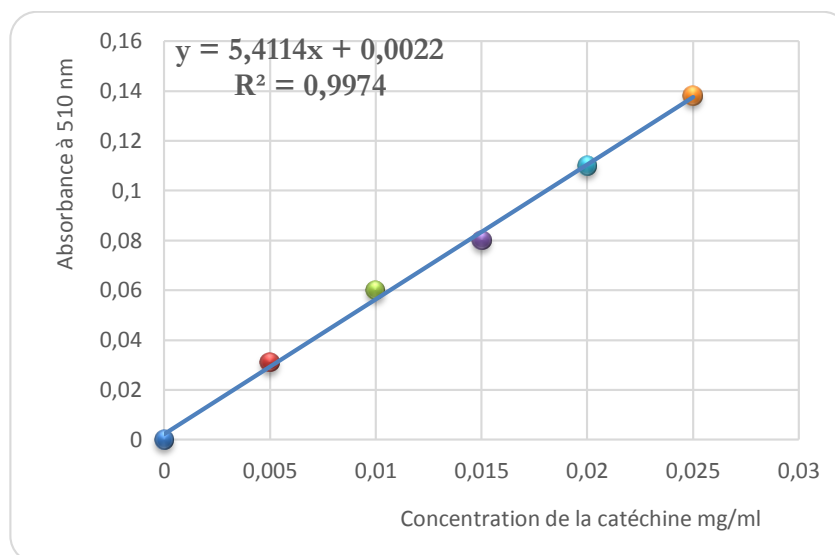


Figure 35 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la catéchine.

Les résultats obtenus du dosage des flavonoïdes chez les 13 plantes étudiées sont illustrés dans l'histogramme (fig. 36) et le tableau 9.

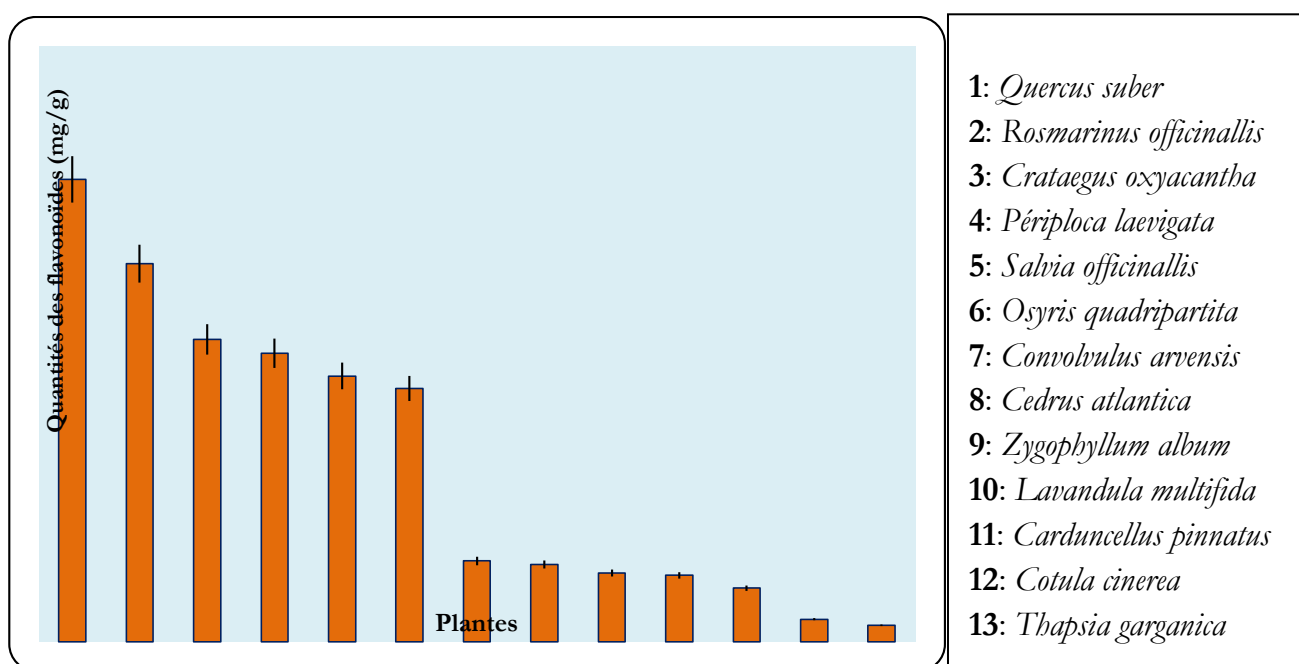


Figure 36 : Histogramme représentant les teneurs en flavonoïdes par ordre décroissant, exprimée en mg/g de poudre d'extrait méthanolique. Les valeurs sont exprimées en (dm) ± erreur standard calculée sur la moyenne (n = 3).

Tableau 9 : Les valeurs des teneurs en Flavonoïdes (mg /g MS) de 13 extraits de plantes ou parties des plantes testées

Espèce	Famille	Partie utilisée	Teneur en Flavonoïdes (mg/g MS)
<i>Carduncellus pinnatus</i>	Astéracées	Racines	26.93 ± 1.60
<i>Cotula cinerea</i>	Astéracées	feuilles + fleurs	11.23 ± 0.45
<i>Thapsia garganica</i>	Apiacées	Racines	08.35 ± 0.32
<i>Zygophyllum album</i>	Zygophyllacées	Partie aérienne	34.64 ± 0.32
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiacées	Partie aérienne	190.42 ± 1.90
<i>Convolvulus arvensis</i>	Convolvulacées	Racines	40.61 ± 1.09
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiacées	Partie aérienne	133.86 ± 3.27
<i>Osyris quadripartita</i>	Santalacées	Partie aérienne	127.53 ± 1.48
<i>Quercus suber</i>	Fagacées	Feuilles + Tiges	232.93 ± 1
<i>Lavandula multifida</i>	Lamiacées	Partie aérienne	33.38 ± 0.63
<i>Cedrus atlantica</i>	Pinacées	Feuilles	38.92 ± 3.57
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Rosacées	Partie aérienne	152.27 ± 0.88
<i>Périploca laevigata</i>	Asclepiadacées	Partie aérienne	145.29 ± 1.27

Le taux des flavonoïdes enregistré dans les feuilles d'*Osyris quadripartita* Salzm est de 127.53 ± 1.48 mg/g, ce qui la qualifie comme plante riche en composés flavonoidiques. Les flavonoïdes caractéristiques de la famille Santalaceae ont été identifiés comme étant des flavonols comme le kaempferol, le quercétine et des dihydroflavolols (**Giannasi**, 1988)

La richesse de *Quercus suber*, *Salvia officinallis* et *Rosmarinus officinallis* en flavonoïdes a été confirmée par certains auteurs : 116 ± 5 mg/g pour *Salvia officinallis* (**Then et al.**, 2012) et 125.70 mg/g pour *Rosmarinus officinallis* (**Benamar et al.**, 2010).

De même, on trouve quelques plantes contiennent des quantités faibles en flavonoïdes, ces mêmes résultats sont obtenus par **Khacheba** (2008) avec 2.83 mg/g pour *Thapsia garganica*, lors d'une étude effectuée sur plusieurs plantes médicinales, ainsi que les résultats de **Benhammou** (2012) (3.93 ± 0.06 et 1.61 ± 0.02 mg/g pour *Cotula cinerea* et *Zygophyllum album* respectivement). Ce phénomène peut être dû aux méthodes analytiques utilisées.

En générale, on remarque que nos valeurs sont proches à celles de la littérature et le contenu polyphénolique et y compris les flavonoïdes varie qualitativement et quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (**Ebrahimi et al.**, 2008).
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (**El-Waziry**, 2007).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également Influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al.**, 2003).
- les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouri et al.**, 2008).

Il a été prouvé que les teneurs des phénols 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 and Lamb**, 2005 ; **Piquemal**, 2008).

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Mata et al.**, 2007) .

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari**, 2002).

4.2. Détermination du potentiel antioxydant :

4.2.1. Détermination de l'activité antioxydante par bio-autographie :

Les chromatogrammes des différents extraits révélés par DPPH présentent des bandes jaunes sur un fond violet ce qui indique que ces substances sont capables de réduire le radical DPPH. Certains de ces produits apparaissent instantanément, par contre d'autres produits apparaissent après 30 mn. (fig. 37).

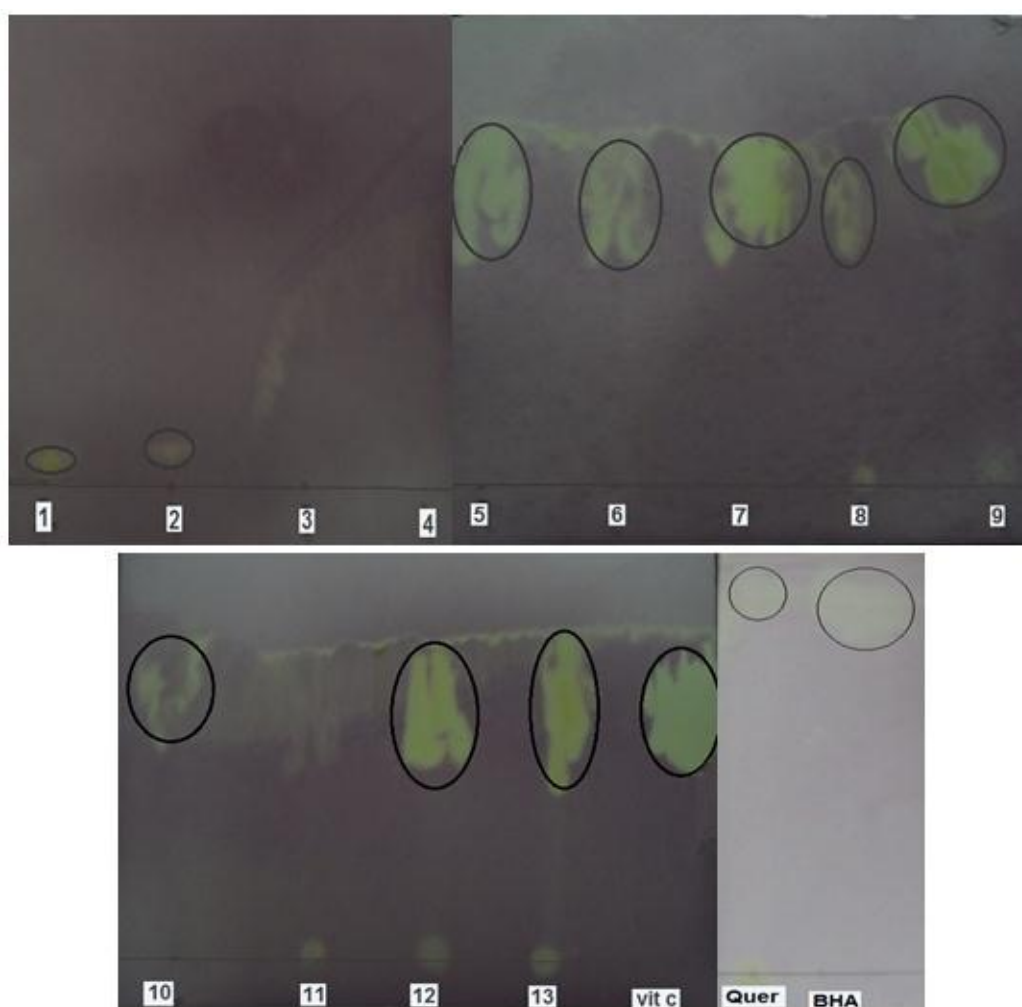


Figure 37: Screening de l'activité antioxydante par bio-autographie des extraits végétaux en utilisant le DPPH comme révélateur :

1: *Carduncellus pinnatus* (Racines); 2: *Cotula cinerea* (partie aérienne); 3: *Thapsia garganica* (Racines); 4: *Zygophyllum album* (partie aérienne); 5: *Rosmarinus officinalis* (partie aérienne); 6: *Convolvulus arvensis* (Racines); 7: *Salvia officinalis* (partie aérienne); 8: *Oxyris quadripartita* (partie aérienne); 9: *Quercus suber* (feuilles + tiges) 10: *Lavandula multifida* (partie aérienne) ; 11: *Cedrus atlantica* (feuilles) ; 12: *Crataegus oxyacantha* (partie aérienne) ; 13: *Péríploca laevigata* (partie aérienne).

Quer : Quercétine, Vit C : Vitamine C, BHA : Hydroxyanisole butylé

Parmi les 13 extraits testés, 9 ont manifesté la capacité de réduire le radical DPPH. Les résultats obtenus avec les différents extraits sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Screening du potentiel antioxydant de 13 extraits par bio-autographie (test antioxydant contre le DPPH). Tous les extraits ont été obtenus par extraction méthanoïque puis sécher à l'aide de Rotavapeur.

Espèce	Partie de la plante	Rf des spots actifs
<i>Carduncellus pinnatus</i>	Racines	-----
<i>Cotula cinerea</i>	Partie aérienne	-----
<i>Thapsia garganica</i>	Racines	-----
<i>Zygophyllum album</i>	Partie aérienne	-----
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Partie aérienne	0.84
<i>Convolvulus arvensis</i>	Racines	0.81
<i>Salvia officinalis</i>	Partie aérienne	0.89
<i>Osyris quadripartita</i>	Partie aérienne	0.66
<i>Quercus suber</i>	Feuilles + Tiges	0.95
<i>Lavandula multifida</i>	Partie aérienne	0.79
<i>Cedrus atlantica</i>	Feuilles	----
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Parties aérienne	0.78
<i>Péríploca laevigata</i>	Partie aérienne	0.74
BHA		0.93
Quercétine		0.97
Vitamine C		0.74

Les résultats de la CCM nous informent sur la présence et la richesse de nos extraits aux antioxydants en comparant avec les antioxydants de la référence : le BHA, la vitamine C et la quercétine.

Les extraits ayant les activités antioxydantes les plus fortes ont donnés des taches larges de couleur jaune foncée c'est le cas de : *Rosmarinus officinalis*; *Convolvulus arvensis*; *Salvia officinalis*; *Quercus suber*; *Crataegus oxyacantha* et *Péríploca laevigata*.

Les extraits de *Carduncellus pinnatus* ; *Cotula cinerea*; *Thapsia garganica* et *Zygophyllum album* ne donnent pas des résultats positifs dans ce test et signifie leur pouvoir antioxydant faible à piéger les radicaux libres et cela est dû aux quantités faibles en polyphénols et flavonoïdes qu'elles représentent.

Ce test a montré aussi qu'une ou plusieurs taches parmi les plus actives apparaissent immédiatement après la révélation par DPPH ; tel que *Crataegus oxyacantha* ; *Péríploca*

laevigata. Le composé majeur peut aussi constituer une contribution significative du potentiel antioxydant de l'extrait (**Djeridane et al.**, 2006 ; **Wang et al.**, 2008).

Lors de cette étude qui a porté sur 13 plantes récoltés de différentes régions de pays et dont beaucoup d'elles sont réputées de médicinales, sept extraits méthanoliques se sont révélés actifs par bio-autographie. Cette activité peut être expliquée par la présence des polyphénols dont l'activité antioxydante est bien établie. En effet, plusieurs études ont rapporté que l'activité antioxydante des plantes qui ont des propriétés thérapeutiques est dues à la présence de substances naturelles principalement des polyphénols (**Rice-Evans et al.**, 1997 ; **Pokorny et al.**, 2001; **Virgili et Scaccini**, 2001)

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

L'activité antioxydante mise en évidence par le teste DPPH sur les extraits concernés (les extraits végétaux actifs testés par bio-autographie) 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 des substances de référence qui sont : la quercétine, l'acide ascorbique et le BHA et qui ont montré une respectivement une IC₅₀ de 2.92 µg/ml ; 2.74 µg/ml ; 14.72 µg/ml.

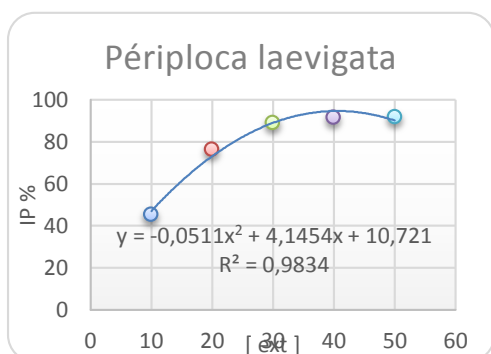
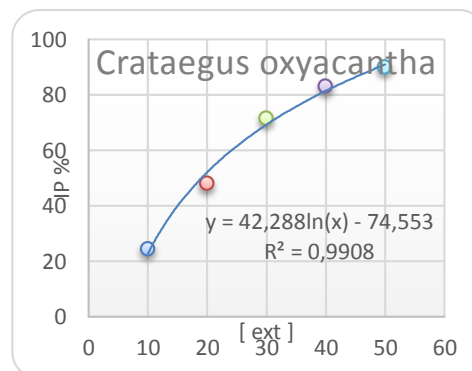
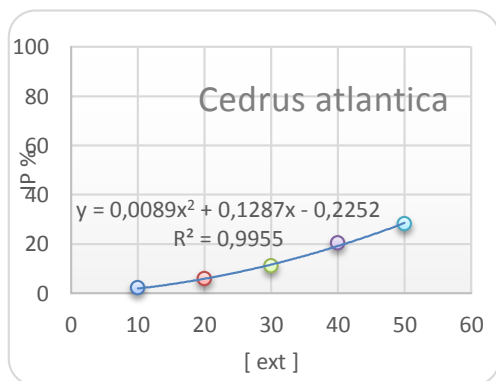
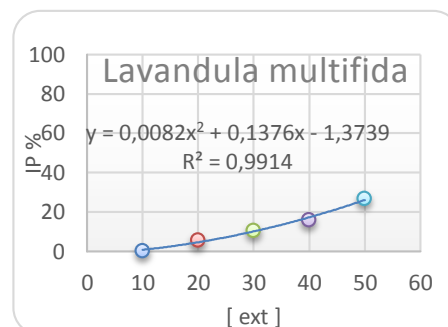
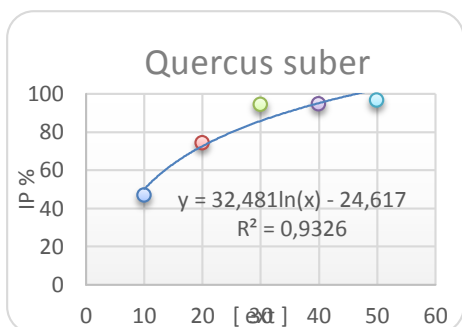
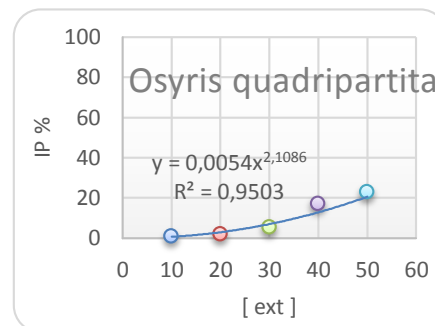
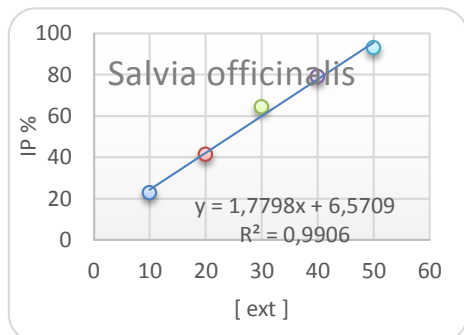
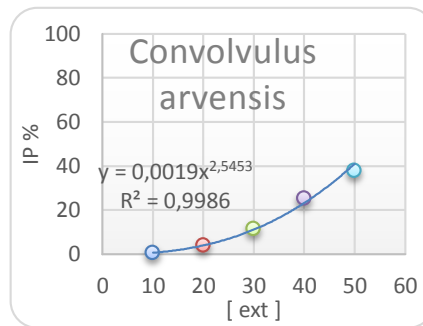
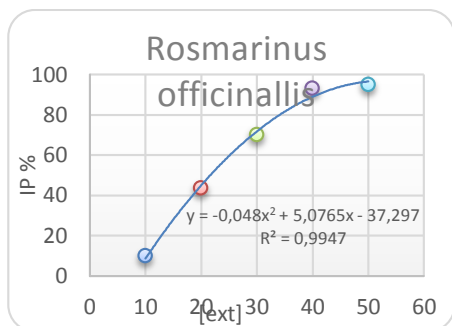


Figure 38 : Activité antiradicalaire (% d'inhibition de radical DPPH) des extraits méthanoliques des différentes plantes étudiées (chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD).

Les valeurs d'IC₅₀ des extraits actifs sont représentées dans le tableau 11 suivant :

Tableau 11 : Les valeurs d'IC₅₀ de différents extraits actifs par rapport aux témoins (antioxydants de référence).

Espèce	Partie utilisée	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Partie aérienne	24.13
<i>Convolvulus arvensis</i>	Racine	72.74
<i>Salvia officinalis</i>	Partie aérienne	23.17
<i>Osyris quadripartita</i>	Partie aérienne	103.60
<i>Quercus suber</i>	Feuilles + Tiges	15.40
<i>Lavandula multifida</i>	Partie aérienne	100.72
<i>Cedrus atlantica</i>	Feuilles	92.81
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Partie aérienne	23.51
<i>Péríploca laevigata</i>	Partie aérienne	15.98
Témoins positifs		
Quercitrine		2.92
Acide ascorbique (vit c)		2.74
BHA		14.72

Les résultats d'IC₅₀ obtenus des extraits étudiés sont représentés sous forme des histogrammes (fig.39) en comparaison avec les IC₅₀ des antioxydants de références (quercétine ; acide ascorbique et le BHA).

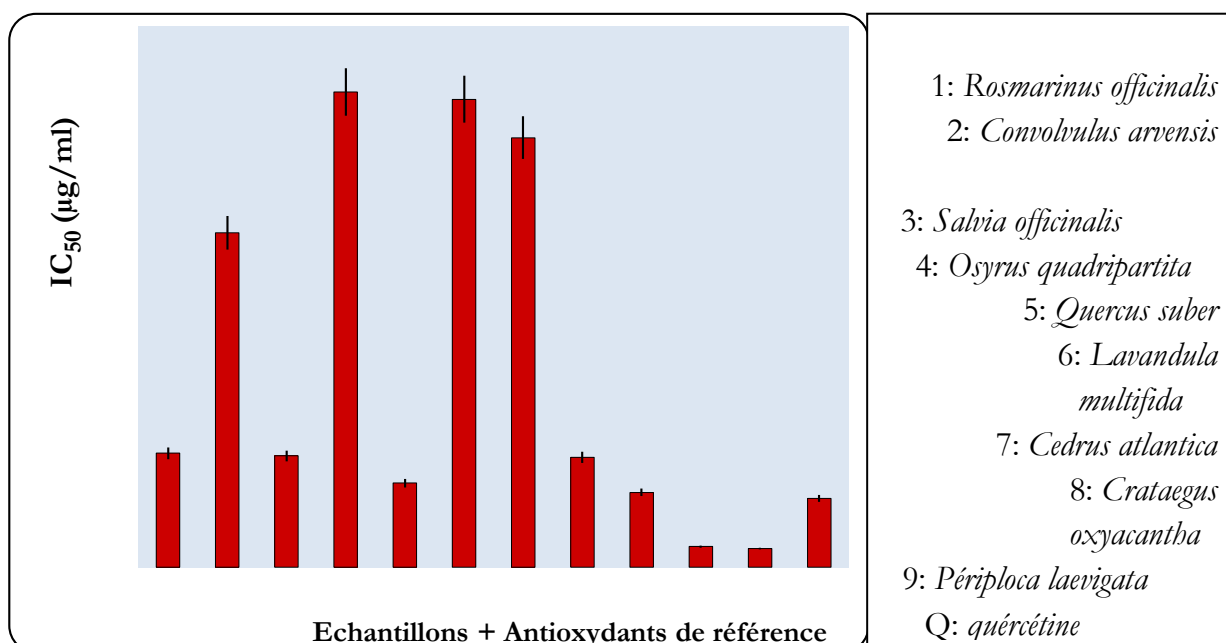


Figure 39 : Histogramme représentant les valeurs d'IC₅₀ des extraits et des trois antioxydants de référence.

Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, deux autres paramètres sont introduits :

- **Calcul de l'EC₅₀** qui prend en considération la concentration de DPPH dans le milieu réactionnel [concentration effective à 50%, $EC_{50} = (IC_{50}/\text{mg de DPPH/ml})$]
- **Calcul du pouvoir antiradicalaire (APR)** qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀ ($APR = 1/EC_{50}$) (**Prakash et al.**, 2007).

Le tableau 12 représente les valeurs de trois paramètres (IC₅₀, EC₅₀, APR) des extraits méthanoliques de 13 plantes étudiées.

Tableau 12 : les valeurs d'IC₅₀, EC₅₀, APR des extraits et des trois antioxydants de référence.

Espèce	IC ₅₀ (µg/ml)	EC ₅₀ (µg/µg DPPH)	APR
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24.13	0.97	1.03
<i>Convolvulus arvensis</i>	72.74	2.91	0.34
<i>Salvia officinalis</i>	23.17	0.93	1.07
<i>Osyris quadripartita</i>	103.60	4.14	0.24
<i>Quercus suber</i>	15.40	0.62	1.61
<i>Lavandula multifida</i>	100.72	4.03	0.25
<i>Cedrus atlantica</i>	92.81	3.71	0.32
<i>Crataegus oxyacantha</i>	23.51	0.94	1.06
<i>Péréploca laevigata</i>	15.98	0.64	1.56
Antioxydants de référence			
Quercétine	2.92	0.12	8.56
Acide ascorbique (vit c)	2.74	0.11	9.12
BHA	14.72	0.59	1.70

A des fins comparatives, trois antioxydants standards sont utilisés ; la quercétine, l'acide ascorbique et le BHA. Les deux premiers ont montré une activité antiradicalaire très puissante avec des IC₅₀ de l'ordre de : 2.92µg/ml et 2.74 µg/ml et des APR de l'ordre de : 8.56 et 9.12 pour la quercitrine et l'acide ascorbique respectivement, au contraire, le BHA montre une activité antiradicalaire faible par rapport aux deux premiers mais elle reste puissante. La valeur d'IC₅₀ de la quercétine et de l'acide ascorbique est très proche de celle rapportée auparavant (IC₅₀ = 1.31 µg/mg) par **Meziti** (2011).

En effet, la faible valeur IC₅₀ signifie la forte activité antioxydante. Dans ce cas, le dosage spectrophotométrique par la réduction du DPPH a mis en évidence cinq extraits

actifs et qui présentent les valeurs d'IC₅₀ les plus faibles, c'est le cas des extraits méthanoliques issus de : *Rosmarinus officinalis* ; *Salvia officinalis* ; *Quercus suber* ; *Crataegus oxyacantha* et *Péríploca laevigata*. Ces valeurs allant de 15.40 µg/ml à 24.13µg/ml, ce qui démontre que l'activité antioxydante est plus forte chez ces plantes. L'ordre d'efficacité est le suivant : *Quercus suber* > *Péríploca laevigata* > *Salvia officinalis* > *Crataegus oxyacantha* > *Rosmarinus officinalis*. En comparant l'extrait méthanolique de *Quercus suber*, *Péríploca laevigata* et le BHA, les IC₅₀ obtenues sont presque identiques alors que les IC₅₀ de l'extrait de *Rosmarinus officinalis*, *Crataegus oxyacantha* et *Salvia officinalis* sont très proches à celle de BHA (antioxydant de référence), ceci confirme l'activité antioxydante puissante de ces extraits. Cette activité antioxydante de ces plantes a été remarqués dans certaines études : *Quercus suber* (**Sam et al.**, 2012), *Rosmarinus officinalis*, (**Makhloufi**, 2013), *Crataegus oxyacantha* (**Mhamedi**, 2006), *Salvia officinalis* (**Madi**, 2010). Les autres plantes (*Convolvulus arvensis*, *Cedrus atlantica*, *Lavandula multifida*, *Osyris quadripartita*) présentent une faible activité antioxydante avec des valeurs d'IC₅₀ variant entre 72.74 et 103.6 µg /ml (tableau 11).

Nous avons utilisé deux autres paramètres : le paramètre EC₅₀ (concentration effective à 50%) et APR (pouvoir antiradicalaire) pour bien classer les différents extraits qui ont un pouvoir antioxydant. Notant que, la faible concentration EC₅₀ donne une valeur d'APR élevée (ex : Quercitrine, Acide ascorbique, BHA) et on remarque que les extraits qui présentent une activité antioxydante puissante avec l'ordre croissant (*Quercus suber* > *Péríploca laevigata* > *Rosmarinus officinalis* > *Crataegus oxyacantha* > *Salvia officinalis*) possèdent des valeurs faibles en EC₅₀ variant entre 0.62 - 0.97 (µg /µg DPPH) et des valeurs élevées en APR variant entre 1.61 - 1.03. Les valeurs d'EC₅₀ et APR des autres extraits variant entre 2.91 – 4.14 (µg /µg DPPH) et entre 0.34 – 0.24 respectivement et restent faible à celle des antioxydants de référence, ces résultats sont similaires à ceux enregistrés par **Bougandoura** et Bendimerad (2012) que les extraits aqueux et méthanoliques sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré mais relativement faible que celle d'acide ascorbique.

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

Selon la courbe, et l'histogramme (fig. 40 ; 41), on constate qu'il y'a une corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et les teneurs en polyphénols totaux.

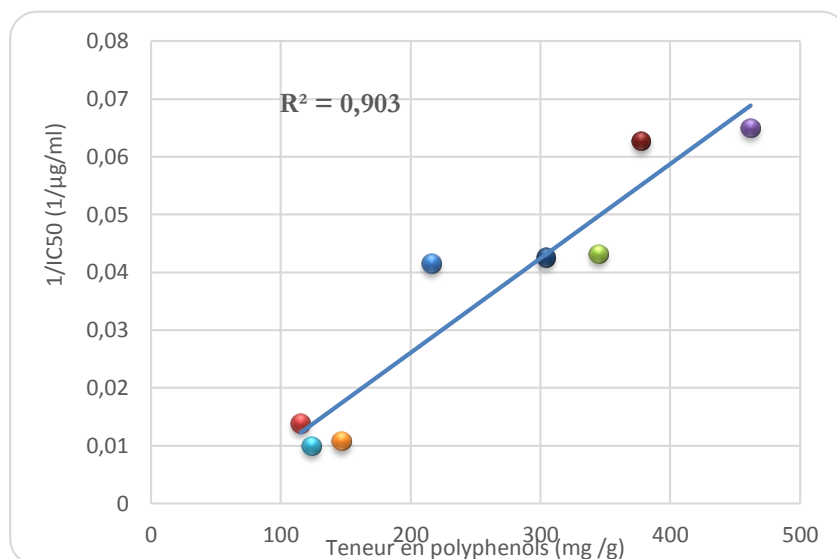


Figure 40 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en polyphénols totaux.

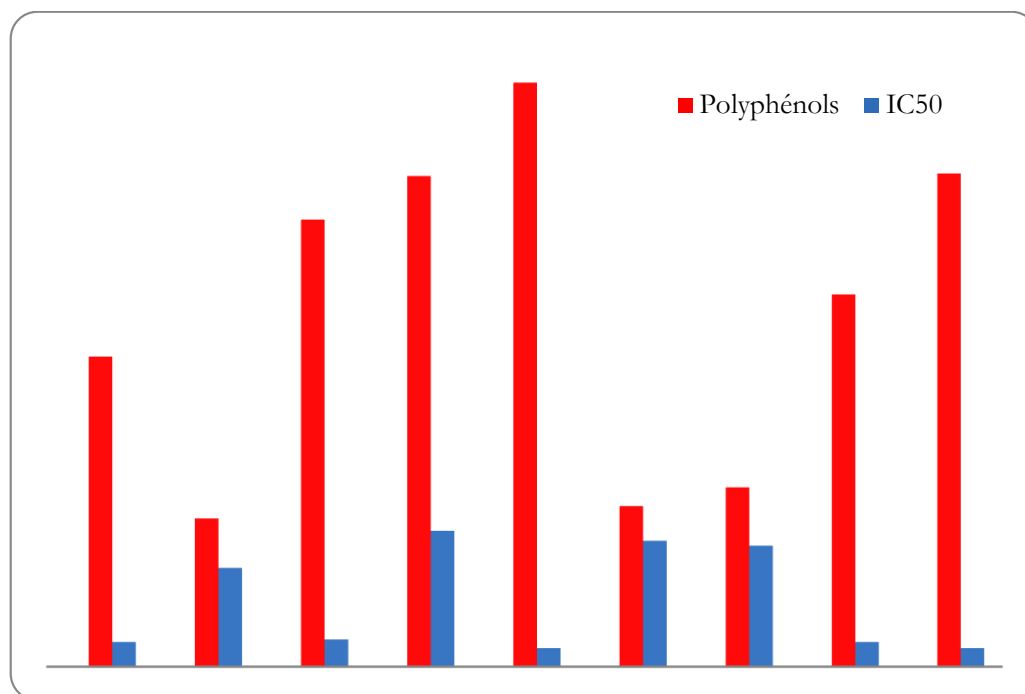


Figure 411: Comparaison entre IC₅₀ et la teneurs en polyphénols totaux des différents extraits actifs

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 (Tsai *et al.*, 2008), 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 (IC_{50}) et la teneur en polyphénols ($R^2 = 0,90$). Cette corrélation explique que les extraits à hautes teneurs en polyphénols donnent une valeur IC_{50} faible, donc elles exercent un effet antioxydant fort comme il est indiqué par l'histogramme (fig. 36).

Cette corrélation entre les teneurs en polyphénols avec le potentiel antiradicalaire a été par ailleurs démontrée par : Cai *et al.* (2004) ; Sanchez *et al.* (2007) ; Wojdylo *et al.* (2007) ; Li *et al.* (2008) ; Soobratte *et al.* (2008) ; Yen *et al.* (2008) ; Rached (2009).

➤ **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 42 et 43 illustrent la variation d' IC_{50} en fonction des teneurs en flavonoïdes. Nous remarquons la présence d'une corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et l'activité antioxydante ($R^2 = 0.82$) représentée par l'indice IC_{50} évaluée par le test du piégeage de DPPH.

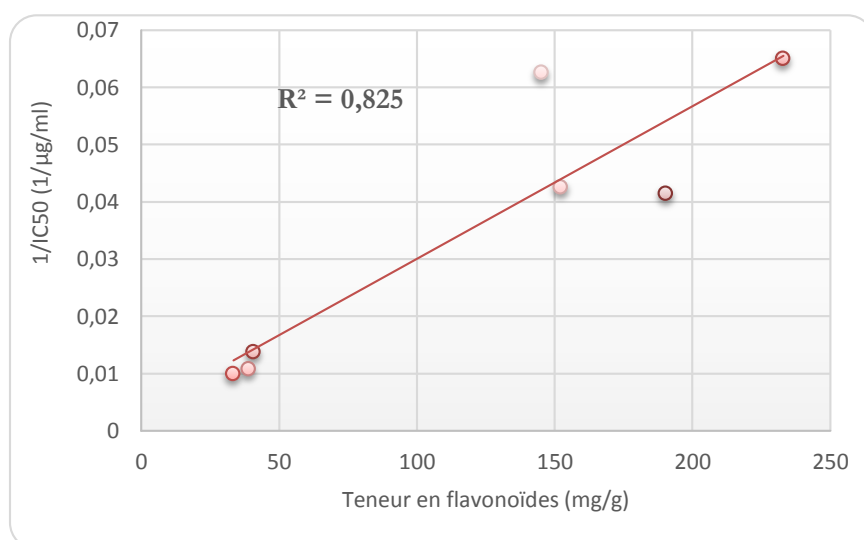
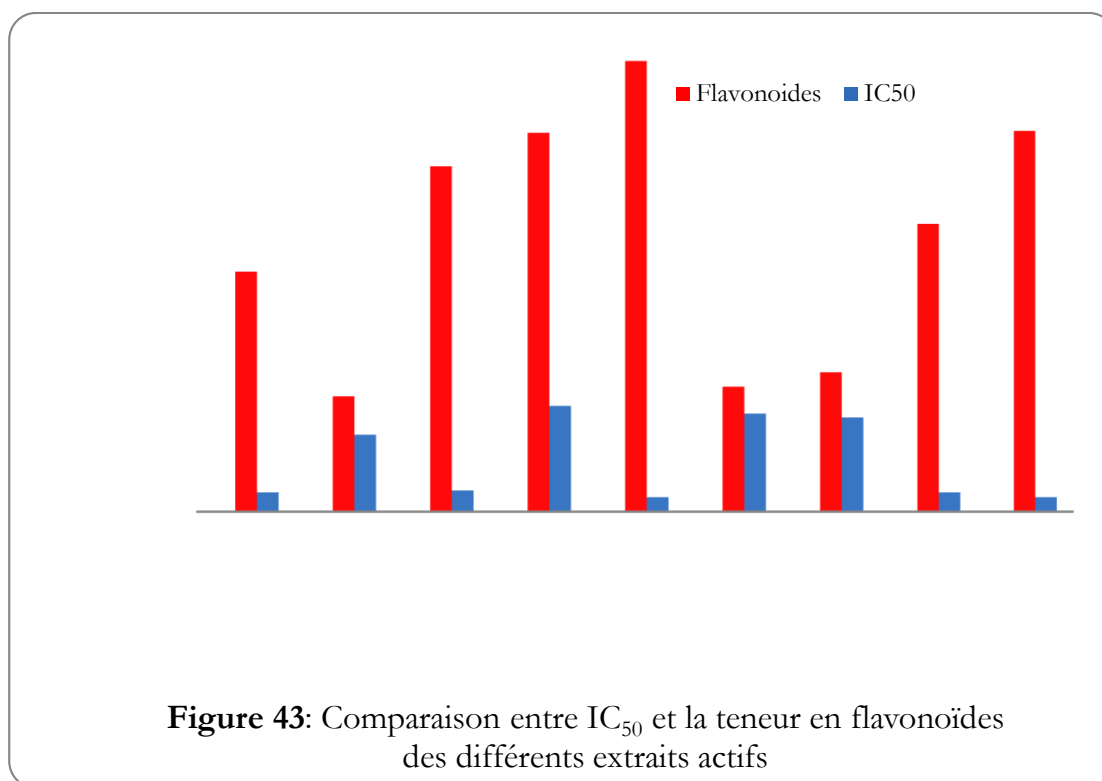


Figure 42 : Corrélation entre l'activité antioxydante des extraits actifs et la teneur en flavonoïdes.



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 ; **Sanchez et al.**, 2007 ; **Wojdylo et al.**, 2007 ; **Li et al.**, 2008 ; **Soobrattre et al.**, 2008 ; **Yen et al.**, 2008 ; **Rached**, 2009).

2.3. Réduction du fer (FRAP) :

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (**Li et al.**, 2007).

Pour tous les extraits, des dilutions en cascade allant de 1 à 0.1 mg/ml, sont préparées, les pouvoirs réducteurs sont mesurés à 700 nm (**Amarowicz et al.**, 2010 ; **Gülçin et al.**, 2010). Pour le BHA, les dilutions sont de 1mg/ml ,10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ et 10⁻⁵

Le pouvoir réducteur est souvent employé comme indicateur de la capacité d'un composé à céder un électron. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant qui est un mécanisme important qui examine l'action antioxydante des composés phénoliques (**Wang**, 2008).

Le teste du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydante de l'échantillon testé. Cette activité est basée sur la réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fer (II) .

La révélation du pouvoir réducteur d'un échantillon est basée sur le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verdâtre dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque échantillon. Ce dernier dépend essentiellement de la quantité de réducteurs présent dans le milieu testé, ce qui se traduit par l'augmentation de l'absorbance au fur et à mesure que cette quantité augmente, elle est estimée par la mesure de l'absorbance de la solution à 700 nm (**Leandro, 2008**).

Les résultats de l'activité réductrice des extraits méthanoliques des plantes étudiées sont représentés dans la figure 44. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration. Ces résultats sont comparés entre eux et avec celle de l'antioxydant artificiel (BHA).

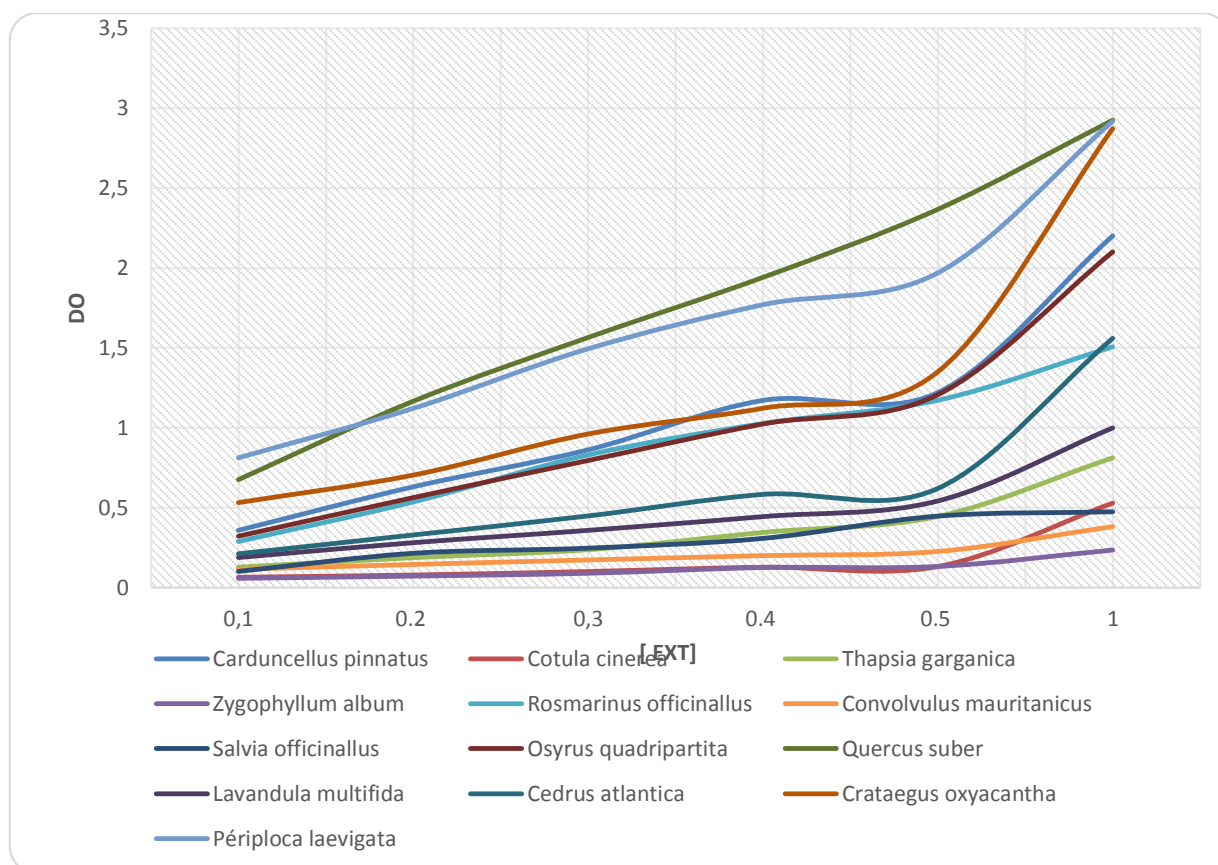


Figure 44 : Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées.

L'analyse des résultats dévoile que le pouvoir réducteur se diffère d'un extrait à l'autre et on peut les classer en trois catégories : les plus puissants (*Quercus suber* ; *Péréploca laevigata*), les plus faibles (*Cotula cinerea*, *Zygophyllum album*, *Convolvulus arvensis*), les restes sont considérés comme étant modérés.

Cette activité peut être confirmée par le calcul du paramètre IC₅₀, c'est-à-dire la valeur de la concentration de l'extrait qui nous permet de transformer la moitié de Fe (III) en Fe (II), pour cela nous avons déterminé la concentration IC₅₀ pour comparer l'activité réductrice des extraits, les résultats sont résumés dans le tableau 13..

Tableau 13 : Les différentes valeurs d'IC₅₀ pour le pouvoir réducteur (FRAP)

Extrait méthanolique	IC ₅₀ (mg/ml)
<i>Carduncellus pinnatus</i>	0,81
<i>Cotula cinerea</i>	10,63
<i>Thapsia garganica</i>	2,47
<i>Zygophyllum album</i>	9,61
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,84
<i>Convolvulus arvensis</i>	6,88
<i>Salvia officinalis</i>	2,51
<i>Osyris quadripartite</i>	0,84
<i>Quercus suber</i>	0,41
<i>Lavandula multifida</i>	2,17
<i>Cedrus atlantica</i>	1,75
<i>Crataegus oxyacantha</i>	0,82
<i>Péréploca laevigata</i>	0,49
BHA	0.045

D'après les résultats d'IC₅₀ reportés dans le tableau 13, les extraits : *Quercus suber* ; *Péréploca laevigata* ont montrés les valeurs les plus faibles de IC₅₀ par rapport aux autres extraits (0.41mg/ml et 0.49mg/ml respectivement) cela prouve que ces extraits possèdent 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 montrent aussi que les trois extraits : *Convolvulus arvensis*, *Zygophyllum album*, *Cotula cinerea* présentent des valeurs élevées de IC₅₀ (6.88mg/ml ; 9.61 mg/ml ; 10.63 mg/ml respectivement. En effet, la concentration IC₅₀ la plus élevée est enregistrée pour l'extrait de : *Convolvulus arvensis*, *Zygophyllum album*, *Cotula cinerea*

(6.88mg/ml ; 9.61 mg/ml ; 10.63 mg/ml respectivement), ce qui indique que ces extraits présentent les plus faibles activités comparativement aux extraits de *Rosmarinus officinalis* ;

Carduncellus pinnatus ; *Crataegus oxyacantha* ; *Cedrus atlantica* ; *lavandula multifida* ; *Thapsia garganica* et *Salvia officinalis* avec des valeurs comprises entre 0.82 et 2.51mg/ml.

L'efficacité de réduction de fer est inversement proportionnelle à la valeur IC₅₀, elle est de l'ordre croissant selon le classement suivant :

Quercus suber > *Péríploca laevigata* > *Carduncellus pinnatus* > *Crataegus oxyacantha* > *Rosmarinus officinalis* > *Osyris quadripartita* > *Cedrus atlantica* > *lavandula multifida* > *Thapsia garganica* > *Salvia officinalis* > *Convolvulus arvensis* > *Zygophyllum album* > *Cotula cinerea*.

Ces résultats nous ont permis de conclure que l'extrait de *Quercus suber* et *Péríploca laevigata* présentent une meilleure activité antioxydante par rapport à tous les extraits. En comparant avec l'antioxydant de référence (BHA), tous les extraits présentent des valeurs de IC₅₀ très supérieures par rapport de BHA (0.045 mg /ml) dix fois inférieur au IC₅₀ de l'extrait le plus puissant

➤ **Corrélation entre les teneurs (polyphénols totaux, flavonoïdes) et IC₅₀ de FRAP :**

Dans le but d'établir la relation entre la réduction de fer et les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, les figures 45 et 46 illustrent la variation d'IC₅₀ en fonction des teneurs. Nous remarquons qu'il y a une corrélation modérée entre les teneurs en polyphénols et flavonoïdes de nos extraits et les concentrations IC₅₀ de FRAP avec un R²=0,57 et R²=0,60 pour polyphénols/IC₅₀ et flavonoïdes/IC₅₀ respectivement, ces résultats se mettent d'accord avec ce qu'est trouvé par **Benhammou** (2012) concernant flavonoïdes/IC₅₀ avec R² = 0,59.

Ces résultats montrent aussi le rôle que ces deux familles d'antioxydants l'exerce contre le stress oxydatif par la neutralisation et piégeage des radicaux libres.

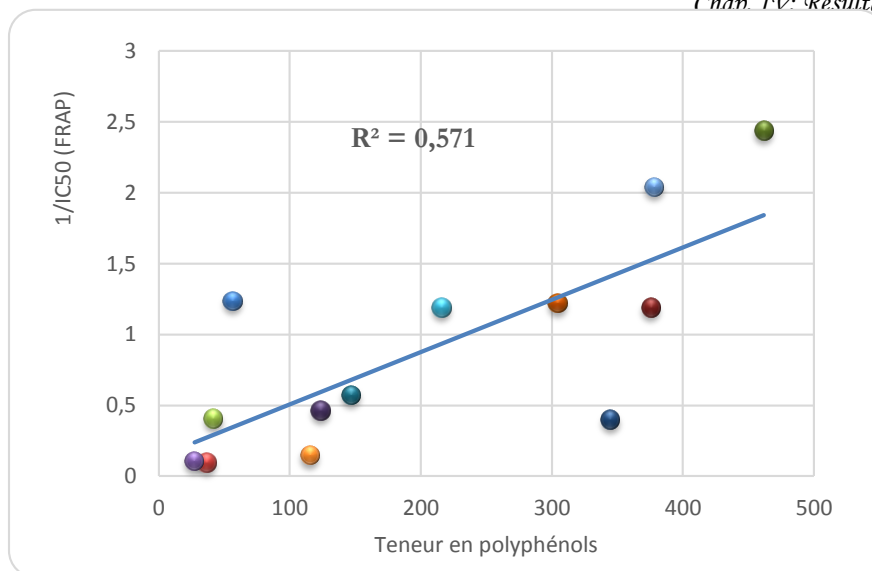


Figure 45 : Corrélation IC_{50} (FRAP) /polyphénol

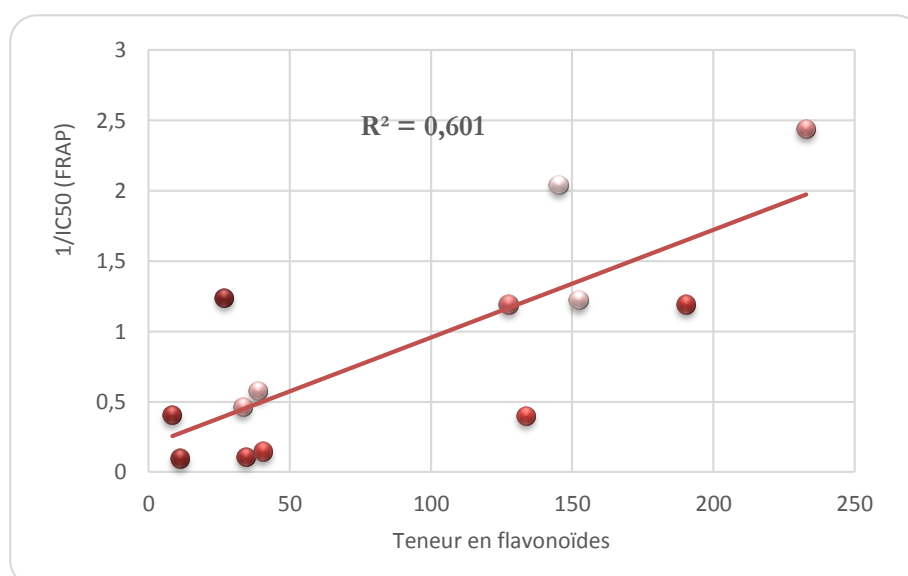


Figure 46 : Corrélation IC_{50} (FRAP) /Flavonoïdes

➤ **Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur de différents extraits méthanoliques testés :**

Plusieurs tests évaluant l'activité antioxydante ont été rapportés par la littérature. Les deux tests employés dans la présente étude sont l'activité anti-radicalaire en employant le radical libre stable DPPH, tandis que l'autre est basé sur le pouvoir réducteur des extraits et repose sur la réaction chimique de réduction du fer (III) en fer (II).

Ces deux tests reposent sur les propriétés redox des antioxydants, en effet les antioxydants utilisent deux mécanismes d'action contre les radicaux libres, qui sont respectivement les transferts d'atome d'hydrogène et d'électrons (Ferhoum, 2010).

Pour bien établir la corrélation entre ces deux tests, on a utilisé les IC₅₀ de chaque teste et les résultats obtenus sont montré dans la figure 47 suivante :

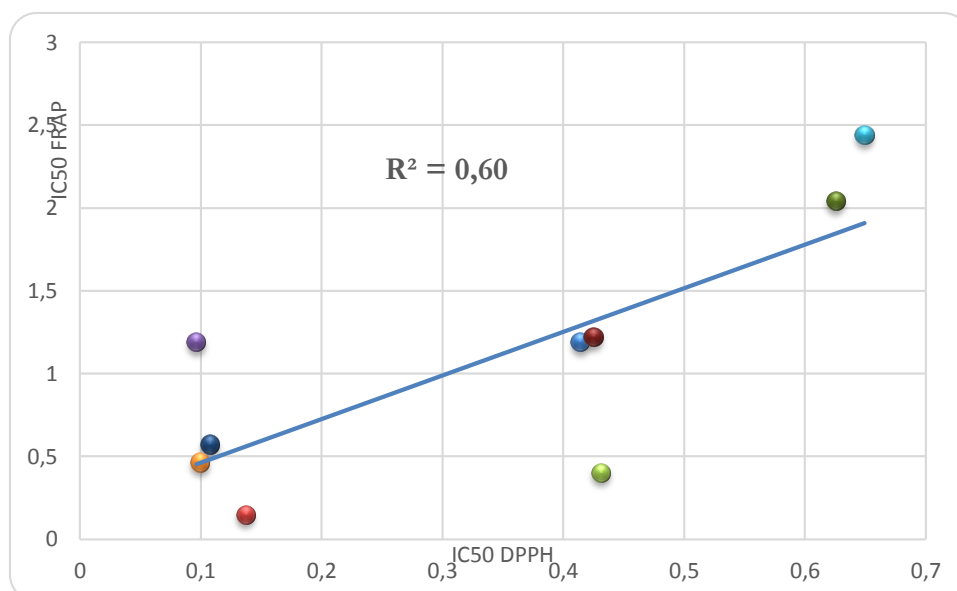


Figure 47 : Corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur

En analysant les coefficients de corrélation obtenus entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur de fer, on remarque qu'il y a une corrélation modérée avec un coefficient $R^2 = 0.60$, cela peut s'expliquer par la qualité des composés (c'est-dire, la nature des composés responsables de l'activité antioxydante).

Mais l'histogramme de la figure 48 montre que les extraits qui présentent un pouvoir anti-radicalaire élevé sont celles qui possèdent un pouvoir réducteur élevé (*Quercus suber*, *Péríploca laevigata*) et qu'il y a une relation entre les deux tests, ce qui signifie que nos résultats sont fiables.

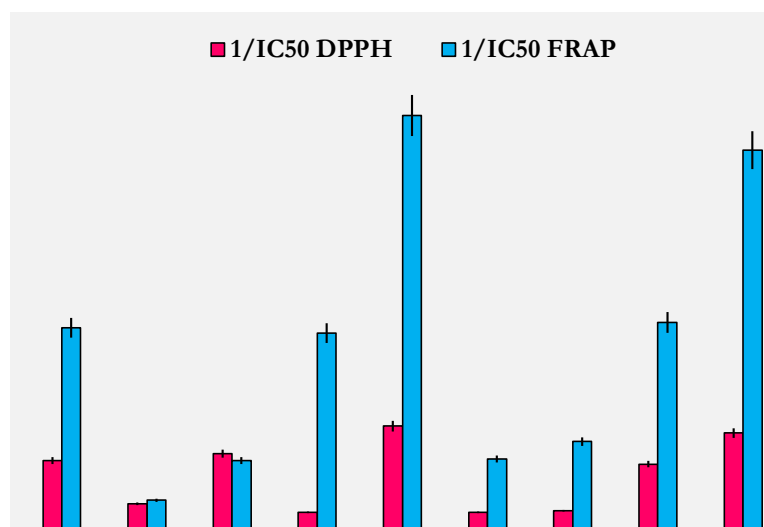


Figure 48: Comparaison entre les valeurs d'IC₅₀ du test DPPH et celles du test FRAP

3. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques a été effectuée vis-à-vis de cinq souches bactériennes et une levure. Les souches étudiées sont représentées dans le tableau

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la technique de diffusion des disques sur milieu solide, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres d'inhibitions en mm.

La quantité d'extrait déposé sur les disques est de 50 μ l (nous avons essayé avec 10 μ l d'extrait mais nous n'avons pas eu d'activité importante).

Les résultats obtenus sont illustrés par les photos (fig.49) et le tableau 14 suivants :

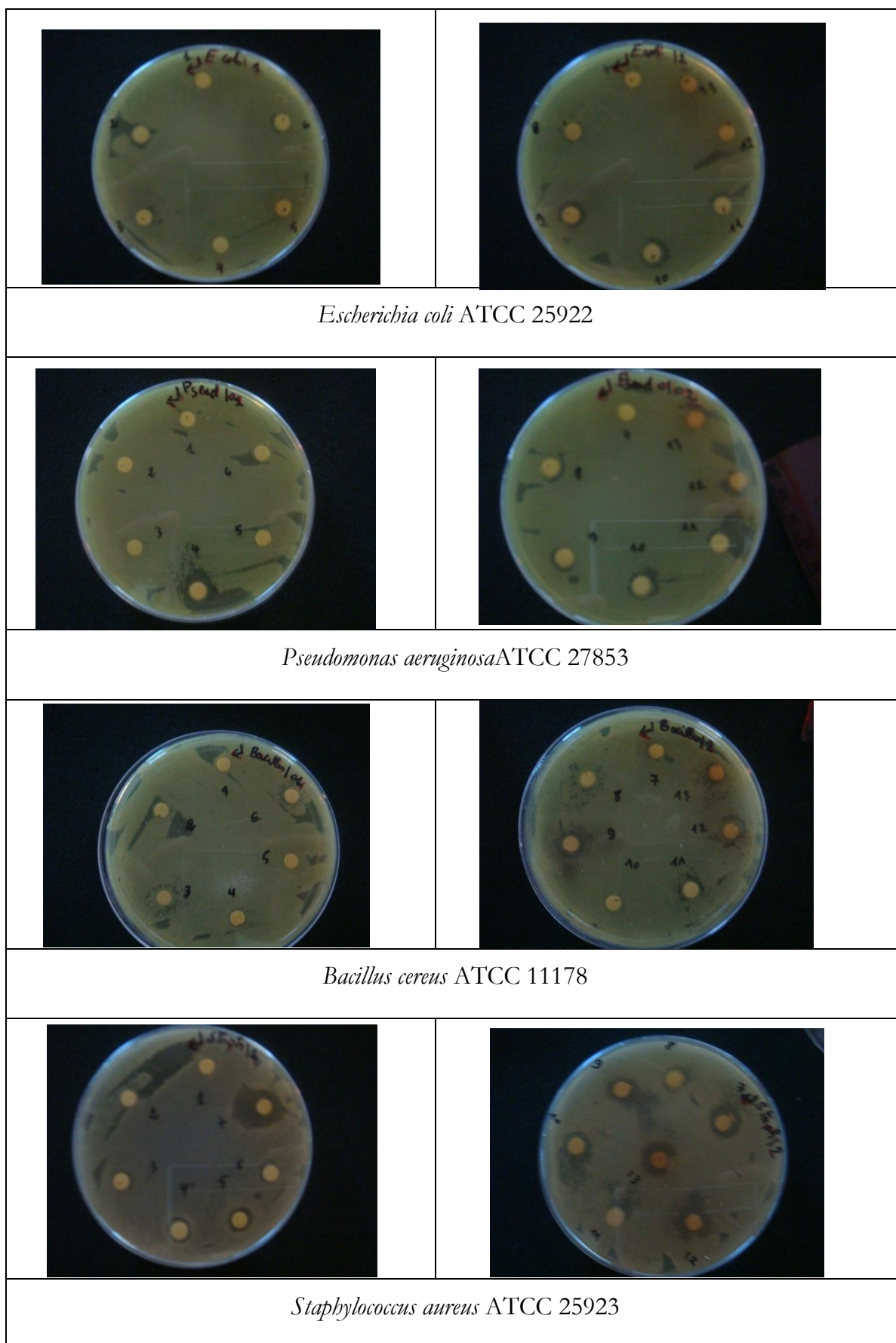


Figure 49 : Photos représentent la zone d'inhibition de la croissance des souches testées par les 13 extraits des plantes étudiées.

1: *Carduncellus pinnatus*; **2:** *Cotula cinerea*; **3:** *Thapsia garganica*; **4:** *Zygophyllum album*; **5:** *Rosmarinus officinalis*; **6:** *Convolvulus arvensis*; **7:** *Salvia officinalis*; **8:** *Osyris quadripartita*; **9:** *Quercus suber*; **10:** *Lavandula multifida*; **11:** *Cedrus atlantica*; **12:** *Crataegus oxyacantha*; **13:** *Péríploca laevigata*.

Tableau 14: Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques.

Extrait \ Souches	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. cereus</i> ATCC 11178	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
<i>Carduncellus pinnatus</i>	-	-	-	-	-
<i>Cotula cinerea</i>	-	-	-	-	-
<i>Thapsia garganica</i>	-	-	-	-	-
<i>Zygophyllum album</i>	-	14	-	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	-	-	10	-
<i>Convolvulus arvensis</i>	-	-	-	-	-
<i>Salvia officinalis</i>	-	-	-	16.5	-
<i>Osyris quadripartita</i>	-	-	-	-	-
<i>Quercus suber</i>	9	-	10	10	-
<i>Lavandula multifida</i>	-	-	-	12	-
<i>Cedrus atlantica</i>	-	-	-	-	-
<i>Crataegus oxyacantha</i>	-	10	-	13	-
<i>Péríploca laevigata</i>	-	-	-	12	-
Antibiotique Clomycine	23	20	25	21	-

Au regard de ces résultats, on a observé que la plus parts de nos extraits ont inhibé la croissance la souche *S. aureus* (bactérie à Gram +), c'est le cas de : *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Quercus suber*, *Lavandula multifida*, *Crataegus oxyacantha* et *Péríploca laevigata*. Ces extraits exercent une activité antibactérienne dose dépendante (**Bouزيد** et *al.*, 2011).

La plus forte activité a été obtenue avec *Salvia officinalis* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 16.5 mm (à la concentration de 50µl). Dans le même contexte, l'extrait de *Zygophyllum album* et *Crataegus oxyacantha* montrés une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa* en accord avec les travaux de **Bouزيد** et *al.* (2011) avec des diamètres de zone d'inhibition de croissance de 14 mm et 10 mm respectivement.

En effet, l'extrait le plus efficace est de *Quercus suber* qui possède une activité microbienne élevée contre trois souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dû à leur activité antioxydant efficace démontrée précédemment par les deux testes (DPPH et FRAP). Sauf

l'extrait de *Quercus suber*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Candida albicans* sont résistantes aux extraits méthanolique de nos échantillons.

Certes l'activité inhibitrice des extraits méthanoliques est plus faible que celle due à l'antibiotiques de référence ; cependant ces extraits exercent une activité antibactérienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts (**Werner et al.**, 1998 ; **Sanogo et al.**, 2006).

D'après les résultats obtenus, on remarque que indépendamment de la nature de l'extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram (-) possèdent une forte résistance. Cette résistance n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides) (**Faucher et Avril**, 2002).

CONCLUSION GENERALE

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défense antioxydant. En raison de la toxicité des antioxydants synthétiques, le recours à des phytonutriments doués d'activités antioxydantes s'avère très avantageux et d'actualité. Les plantes étudiées sont parmi les plantes largement exploitées dans la civilisation islamique et fortement utilisées de nos jours en médecine traditionnelle à travers le monde.

Les résultats des études expérimentales nous ont permis de mieux connaître le pouvoir antioxydant et le profil phytochimique des plantes testées.

La capacité antioxydante par bioautographie et par dosage spectrophotométrique, l'analyse quantitative des polyphénols et flavonoïdes et le screening phytochimique qualitative des polyphénols et flavonoïdes et le screening phytochimique qualitatif de 13 plantes ont été effectués lors de cette étude.

L'activité antiradicalaire a été entreprise dans le but d'évaluer le pouvoir antioxydant et donc de prédire le potentiel pharmacologique de ces plantes dont beaucoup sont réputées par leur statut de plantes médicinales et utilisées effectivement dans la pratique traditionnelle pour diverses affection.

Il ressort de nos résultats que les extraits méthanoliques des plantes : *Rosmarinus officinalis*; *Salvia officinalis*; *Quercus suber* ; *Crataegus oxyacantha* et *Péríploca laevigata* possèdent une bonne activité antioxydante représentée par leurs valeurs d'IC₅₀ faibles.

Le test de pouvoir réducteur (FRAP) a montré que les extraits méthanolique testés sont regroupés en trois: les plus actifs (possèdent un pouvoir réducteur élevé comparativement au celle de la référence BHA) on citant *Quercus suber*, *Crataegus oxyacantha* et *Péríploca laevigata*, les extraits à effet réducteur moyenne (*Carduncellus pinnatus*, *Rosmarinus officinallis*, *Osyris quadripartita* et *Cedrus atlantica*) et les plus faibles: *Cotula cinerea*, *Thapsia garganica*, *Zygophyllum album*, *Convolvulus arvensis*, *Salvia officinalis* et *Lavandula multifida*) avec un pouvoir réducteur faible et inférieur que celle de la référence BHA .

Les résultats des tests biologiques montrent que certains extraits sont très réactifs comparativement à des substances authentique et connues comme le BHA, antioxydant de synthèse largement utilisé dans les industries agro-alimentaires. Ils sont, de ce fait, une source potentielle pour l'isolement d'antioxydants naturels. C'est le cas des extraits méthanoliques de *Quercus suber* et *Péríploca laevigata*.

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.

L'évaluation du pouvoir antibactérien a révélé que la majorité de nos extraits méthanoliques possèdent un pouvoir antibactérien, dose-dépendant, sur la souche *Staphylococcus aureus*. Ces résultats préliminaires sont intéressants et on pense poursuivre les investigations sur ces extraits, en revanche on trouve que le reste des souches sont résistantes à l'exception de l'extrait *Quercus suber* qui possède une activité microbienne élevée contre trois souches cela remonte au problème de dose-dépendant car ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts.

Ces résultats restent préliminaires, Il serait intéressant de tester l'activité des fractions chromatographiées et d'isoler les molécules qui sous-tendent les diverses activités détectées dans les différents extraits. De plus, des études complémentaires approfondies concernant l'identification des composés phénoliques par des méthodes plus performantes sont nécessaires.

Ils serait donc judicieux de poursuivre ce travail par l'identification et l'isolement des principes actifs responsables de cette activité et leur évaluation biologique par des tests *in vivo* sur des modèles animaux ainsi que la détermination de leur toxicité ou leur innocuité éventuelles, en préalable à leur évaluation clinique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

- Agrawal P.K & Markham K.R.**, 1989. Introduction. In Carbon-13 NMR of flavonoids. Agrawal P.K. Ed. Elsevier. Amsterdam. pp 1-31.
- Ahamet S.**, 2003. Etudes phytochimiques et des activités biologiques de *Balanites aegyptica* (Balanitaceae). *Thèse de pharmacie*, Bamako, 117 p.
- Ahmed, A.A., EL -Sayed N., EL-Negoumi, S., Mabry J.T.**, 1987. Flavonoids of *Cotula cinerea*. *Journal of Natural Products*, 50(3): 519-20.
- Ali H., Brogger Christensen S., Foreman J.C., Pearce F.L., Piotrowski W. & Thastrup O.**, 1985. The ability of *Thapsia garginica* and *Thapsia garginin* to activate cells involved in the inflammatory response. *Br. J. Pharmac.*, 85, 705-712.
- Amarowicz R., Estrella I., Hernandez T., Robredo S., Troszynska A, Kosinska A. Et Pegg R.**, 2010 -Free radicals-scavenging capacity: antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*); *Food Chemistry* 121; Ed: Elsevier; p: 705-711.
- Andrikopoulos N.K; Kaliora A.C. ; Assimopoulou A.N. ; and Papageorgiou V.P.**, 2002 – Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against *in vitro* low-density lipoprotein oxidation. *J. Med. Food*. 5, 1-7.
- APG II.**, 2003 - An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2003, 141, 399–436.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* **104**: 21-29.
- Aruoma O. I, Spencer J. P, Rossi R, Aeschbach R, Khan A, Mahmood N, Munoz A, Murcia A, Butler et Halliwell B .**, 1996. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology.*, **34** (5) : 449-456.
- Aruoma, O I.**(1999) Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr.* **8**: 53-63.
- Bammi J. & Douira A.**, 2004. Contribution à la connaissance de la flore vasculaire de la forêt de l'Achach, plateau central (Maroc). Málaga, *Acta Botanica Malacatina*, 29: 23-41.
- Barros L, Heleno S A, Carvalho A M and Ferreira I C F R .**, 2010. Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: vitamins and phenolics. *LWT*, 43, 544-550.
- Beejmohun V, Flinaux O, Hano C, Pilard S, Grand E, Lesur D, Cailleu D, Lamblin F, Laine E, Kovensky S, Flinaux Ma, Mesnard F.**, 2007. Coniferin dimerisation in lignan biosynthesis in flax cells. *PSE50 special issue Phytochemistry* 68: 2744-2752.
- Bellakhdar J.**, (1998). La Pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, *Revue d'histoire de la pharmacie*, vol. 86, n° 320, 1998, p. 465-466.
- Beloued A.**, 2005. Les plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications universitaires (OPU), Algiers, p. 284.
- Belyagoubi N.**, 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien , Thèse de doctorat, Univ. Constantine, 123p.
- Benamar H.**, 2008 – Screening de plantes pour leur activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et analyse phytochimique, *Thèse de Magister*, Uni. D'Oran, 129p.
- Benamar H.; Rached W.; Derdour A.; Marouf A.**,2010. Screening of Algerian Medicinal Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Journal of Biological Sciences*, Volume: 10 Issue: 1 | Page No.: 1-9 DOI: 10.3923/jbs.2010.1.9.

- Benard C, Gautier H, Bougraud F, Grasselly D, Navez B, Caris-Veyrat C, Weiss M, Genard M.**, 2009. "Effect of low nitrogen supply on tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit yield and quality with special emphasis on sugars, acids ascorbate, carotenoids and phenolic compounds." *Journal of agricultural and food chemistry* 57(10):4112-4123.
- Benhammou N.**, 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien Thèse Doctorat en Biologie Univ. A. Belkaïd-Tlemcen. 140p.
- Benhouhou, S. & S. Saadoun, N.**, 1986. Contribution à l'étude de la flore de la région de Béni-Abbés. Undergraduate Thesis. University of Algiers. 241 p.
- Bérubé-Gagnon J.**, 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Thèse de Magister, Université de Québec. 145p.
- Besombes C.**, 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction, Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle, 289p.
- Bhar H. et Balouk A.**, 2011. Les Plantes aromatiques et médicinales, ces plantes odorantes qui soulagent la douleur !, L'Espace Marocain N° 68 / 2° trimestre.
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J.** (2003) Radicaux libres et anti-oxydants. IN : Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. Eds: *Médecine-sciences. Flammarion* (Paris), Pp: 59-81
- Bossokpi. I. P. L.**, 2002. Etude des activités biologiques de Fagara xanthoxyloïdes LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133 p.
- Boudy P.**, 1950. Economie forestière nord-africaine. Monographie et traitement des essences forestières. Tome 2. Fasci 2, 529-878. Ed. La Rose. Paris.
- Bougandoura N, Bendimerad N.**, 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 09, 14-19.
- Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y and Nasri M.**, 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114, 1198-1205.
- Boullard B.**, 2001. Plantes médicinales du monde, croyances et réalités. Ed. *Estem*, p306-307.
- 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.**, 1999. Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales. Ed. TEC & DOC, 3^{ème} éd, Paris, 347-351.
- 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.
- Cantat R & Biazetta R.**, 2005- La levée de liège. Institut méditerranéen de liège.
- Cavin A.**, 1999. Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinospora crispa* (Menispermaceae) *Merremia emarginata* (Convolvulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae). Thèse Doct. Indonésie. 156p.
- Chadefaud M ; Emberger L.**, 1960 ; Traité de botanique (systématique). *Masson et Cie. Éd.* Paris. 650 p.
- Cheung S, Tai J.**, 2007. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Oncol Rep.* 17(6):1525-31.

- Cooper-Driver G.A & Bhattacharya M.**, 1998. Role of phenolics in plant evolution. *Phytochemistry* 49(5), 1165-1174. components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity *in* human bronchial cells. *Carcinogenesis.*, 16 (9) : 2057-2062.
- Cosio M.S., Buratti S., Mannino S., et Benedetti S.**, 2006. Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family.
- Cowan M.**, 1999. Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbio. Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Curtay JP., Robin JM.**, 2000. Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info*:1-4.
- Cuyckens F and Claeys M.**, 2004. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of Mass Spectrometry*: 39(4), 1-15.
- Daglia M.**, 2011. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1-8.
- Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T.**, 2005. Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Thèse Magister, Univ. Burkina Faso. 137p.
- De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T.**, 2006. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A* 1112: 31 - 63.
- Debazac E-F.**, 1964. Manuel des conifères. Ecole Nationale des eaux et des forêts Nancy, 172p.
- Dendougui H, SEGHIR S, JAY M, BENAYACHE F & BENAYACHE S.**, 2012. Flavonoids from *Cotula cinerea* Del. *Int. J. Med. Arom. Plants*. Vol 2, pp 590.
- Deroin T.**, 1994. Réflexions sur la morphologie florale fonctionnelle de *Convolvulus arvensis* L. (Convolvulacées), p. 157- 164 - Départ. /Région : *Bulletin de la Société Botanique du Centre Ouest*, 2, Tome 25.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., and Capasso F.**, 1999. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65(4), 337-353.
- Diallo A.**, 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* willd. (*Myrtaceae*). Thèse de Doctorat. Mali. 123p.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.**, 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97: 654-660.
- Djerroumi A., et Nacef M.**, 2004. 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.
- Dobignard A. et Chatelain C.**, 2010-11. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord. vol. 1, 2, 3, vol. 4 & 5 in prep. Consultable sur le site des CJB de Genève.
- Dominguez M, Nieto A, Marin J.C, Keck A. S, Jeffery E et Cespedes C. L .,** 2005. Antioxydants activities of extract from *Barkleyanthus salicifolius* (Asteraceae) and *penstemon gentianoides* (Scrophulariaceae). *Journal of agriculture and food chemistry*, 53, 5889-5895.
- Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F et Nigel B.P.**, 2007. Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixture. *Food chemistry.*, 101 : 1417- 1424.
- Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M.**, 2008. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry.*, 110 : 927-931.
- Ekoumou C.**, 2003. Etudes phytochimiques et pharmacologiques de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse pharmacie, Bamako, 145 p.
- El Ghou J, Ghanem-Boughanmi N, Ben-Attia M.**, 2011. Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice, *Biomedicine & Preventive Nutrition* 1 ; 79–83.

- El Hamsas El Youbi A.**, 2010. Criblage pharmacologique primaire d'une plante endémique originaire du Sud Marocain (*Tetraena gaetula*), Pharmacologie, toxicologie, C. R. Biologies 333 ; 736–743.
- EL Rhaffari L .**, 2008. Empowering the Rural Poor by Strengthening their Identity, Income Opportunities and Nutritional Security Through the Improved Use and Marketing of Neglected and Underutilized Species. Catalogue Des Plantes Potentielles Pour La Conception De Tisanes ; Movimondo page 06.
- El-Waziry, A.M.**, 2007. Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using *in vitro* gas production technique. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(6): 605-614.
- Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferrero M. J. P.**, 2007. Self organising maps in chemotaxonomic studies of *Asteraceae* : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society.*, 18 (5) : 891-899.
- Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L – Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J.**, 2007. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp 1) : 718 s-737 s.
- Fabiani R. ; Bartolomeo O. ; Rosignoli P. ; Servili M.; Selvaggini R. ; Mentedoro G.F. ; Di Sarverio C. and Morrzo G.**, 2006 – Virgin olive phenols inhibit oil poliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by inducing apopptis and differernciation. *J. Nutr.*, 136, 614-619.
- Faucher, J.L., Avril, J.L.**, 2002. Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 214p.
- Favier A.**, 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique -Nov-Déc, 108-115.
- Ferhoum F.**, 2010. Analyses physicochimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (apis *Mellifca intermissa* et apis *Mellifca sabariensis*).Thèse de Magistère Université M. Bougara Boumerdes. 105p.
- Ferrari J.**, 2002. Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata Steud.* ex A. Rich. Thèse de doctorat de l'université de Lausanne. 160p.
- Fiorucci S.**, 2006. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat, Université de Nice-Sophia Antipolis. 211 p.
- Floch .E.L.**, 1983. Flore et Végétation Tunisiennes, Contribution à une Etude Ethnobotanique de la Flore Tunisienne. Publications Scientifiques Tunisiennes.
- Floss H. G.**, 1997. Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports.*, 14 : 433-434 .*Food chemistry.*, 97 : 725-731.
- Franceschini P.**, 1994. La peau et son vieillissement. Ed : Flammarion Dominos, Paris, 125 p.
- Fukuyama Y.; Nakahara M.; Minami H., Kodama M.**, 1996. Two new benzofuran-type lignans from the wood of *Viburnum awabuki*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 44:1418 - 1420.
- Georgé S, Brat P, Alter P, Amiot J.M.**, 2005. Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 1370-1373.
- Ghanmi M.; Satrani B.; Aberchane M. ; Ismaili R. ; Aafi A. et El Abid A.**, 2011. Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc Les milles et une vertus, Collection Maroc Nature éditée par le Centre de Recherche Forestière.
- Gianassi DE.**, 1988. Flavonoids and evolution in the dicotyledons. *In* The flavonoids: Advances in research since 1980. Chapman and Hall, ed., London. *In* Iwashina T., Lopez-Saez JA. Et Kitajima J., 2008.

- 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. *Jornal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.
- González LG.,** 1989. Acerca de la clasificación natural del Género *Carthamus* L., s.l. *Anales Jard. Bot. Madrid*, 47 (1): 11-34.
- González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ.,**2007.Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 2007 May 22;111(3):476-82.
- Grayer R.J., Chase M.W., and Simmonds M.S.J.,**1999. A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: An appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen". *Biochemical Systematics and Ecology*: 27(4), 369-393.
- Gueye M., Cisse A., Diatta C.D., Diop S., Koma S.,** 2012. Etude ethnobotanique des plantes utilisées contre la constipation chez les Malinké de la communauté rurale de Tomboronkoto, Kédougou (Sénégal). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6 (2) : 773-781, April 2012 .
- Guignard J L .,**2000.Biochimie Vegetale . 274. ED Dunod 2eme édition 2000.
- Gulcin I, Alici H A and Cesur M .,**2005. Determination *in vitro* of antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(3), 281-285
- Gülçin I ; Huyut, Z ; Elmastaş M ; Aboul Enein,Hassan Y. H.Y.,** 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid, *Arabian Journal of Chemistry* 3; Ed: Elsevier; p: 43-53.
- Hamilton A.,**2003.-Medicinal plants and Conservation :Issues and Approaches .Surrey (RoyaumeUni) :International Plants Conservation Unit,WWF-UK,51 pages
- Hammiche V, Maiza K.,** 2006 -Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacol*, 105: 358-367.
- Hand R.,** 2011. Apiaceae. – *In: Euro-Med Plant base - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity.* Consultable sur leur site internet.
- Hans W. Kothe.,** 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.1 vol. (336p.)
- Harborne J.B.,** 1988. The flavonoids, Advances in research since 1980. Chapman & Hall. London.
- Heller W., and Forkmann G.,** 1993. Biosynthesis of Flavonoids. *In The Flavonoids: Advances in research since 1986.* Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall. London. pp 499.
- Herbert, R.B.,** 1989- The Biosynthesis of secondary metabolites .2 edition Chapman and Halle : 2,11-115.
- Hoffmann L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B. et Legrand M.,** 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxyl cinnamoyltransferase affects phenyl propanoid biosynthesis. *Plant Cell.*, 16 (6) : 1446- 1465.
- Hollman P.C.H., and Arts I.C.W.,** 2000 .Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*: 80(7), 1081-1093.
- Hollman P.C.H., and Katan M.B.,** 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine and Pharmacotherapy*: 51(8), 305-310.
- Huang M.T, Ho C.T, Wang Z.Y.,** 1994 .Editors. Inhibition of skin tumorigenesis by Rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Res.*;54:701–8.
- Hussein SR ,Marzouk M, Ibrahim L, Kawashty S, Saleh N.,** 2011. Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (*Zygophyllaceae*), *Biochemical Systematics and Ecology* 39 ; 778 -780.
- Ibañez E, Cifuentes A, Crego A. L, Señoráns F. J, Cavero Set Reglero G.,** 2000. Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase

- high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry.*, **48** (9) : 4060-4065.
- Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G.**, 2000. Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry.*, 48 (9) :4060-4065.
- Iwashina T.**,2000. The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *Journal of Plant Research* 113(3), 287-299.
- Jana M. ;Lazrek, H.B. and Markouk, M.**,1992.Effets bactériostatiques des extraits flavoniques de *Cotula cinerea*. *El Bayrounia Rev. Mar. Pharm*, 8 (2) : 89-96.
- JanaM.**,1996. Médecine et Pharmacopée Traditionnelle du Maroc., Vol 1. Ed.Imprimerie Idéale.
- Jawaid T , Priyanka M, Aankcsha A.**,2011. Hypertension and Herbal Plants ; Hygia Institute of Pharmaceutical Education and Research, Lucnow, India .
- Jean Palaiseul .**; 1999 .La vérité sur les plantes et la vie naturelle. Editeur : Robert Laffont.p : 423.
- Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapraphatsara N., Soejarto D D., Fong H H S.**, 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 - 2751.
- Karaali A., Boyacioğlu D., Günez G. et Özçelik B.**, 2004. Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey.
- Kening Y., Vincenzo D. L. et Normand B.**, 1995. Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptability of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.*, 7 : 1787-1799.
- Khacheba I ,Benamar H .**, 2008. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha – amylase. Thèse Magister, Univ de Laghouat. 131p.
- Koehlin-Ramonatxo C.**, 2006. Oxygen, O. stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique.* 20:165-177.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C.**,2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865- 873.
- Ladjet S., Zellagui A and Gherraf N.**, 2011. Reinvestigation of essential oil content of *Thapsia garganica* grown in the east of Algeria, *Rev. Sci. Fond. App.*, (3) 2, 30-34.
- Lakshmi T.; Geetha R.V.; Anitha R.**, 2012 . *Crataegus oxyacantha* Linn. commonly known as Hawthorn-A Scientific Review. *International Journal of PharmTech Research*, Vol.4, No.1, pp 458-465.
- Larhsini M, Markouk M, Jaouhari JT, Bekkouche K, Lazrek HB, Jana M.**, 2002 .The Antipyretic Activity of Some Moroccan Medicinal Plants. *Phytother Res*; 16: 97-98.
- Le Perchec P.**, 1994. Les molécules de la beauté, de l'hygiène et de la protection .Ed. Nathan, Paris, 142 p.
- Leandro M., Luis G., José AP., Leticia E.**, 2008. Antioxydant propriété , total phénol and pollen analysis of propolis samples from Portugal .*Food and Chemical Toxicology*, 46 3482-3485
- 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.
- Lemonica I.P., Damasceno D.C. et Di-Stasi L.C.**, 1996. Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*).*Brazilian journal of medical and biological research.*, 29 (2) :223-227.

- Lhuillier A.**, 2007 .Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (*ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* baker (*monimiaceae*)et *Ambelia concinna* baker (*myrsinaceae*). Thèse Doct. Univ. Toulouse , 167p.
- 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.
- Longaray Delmare A.P., Ivete T.M.P.,Liane A.,Luciana A.S et Sergio E.**, 2007.Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba*cultivated in south brazil. *Food chemistry.*, 100 : 603-608.
- Loubna .**, 2007 . Biodiversité végétale urbaine d'ars-laquenexy, Rapport De Stage Réalisé du 22/05 à 15/07, Université Paul Verlaine, Metz, France.
- Macheix J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.**, 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.
- Madi A.**, 2010 .Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de Magister, Univ. Mantouri, Constantine, pp107.
- Maire**, 1938 - *Thapsia garganica* sub sp. *decussate* (Lag.), *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 29: 421
- Maiza K, Brac Perrière RA, Hammiche V.**, 1993 . Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. 2nd proc of European Conf on Ethnopharmacology & 11th Int. Conf. Of Ethnomedecine. Heidelberg, France, p. 169-171.
- Makhloufi A.**, 2013. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de Doct , Université A. Belkaid. Tlemcen. 156p.
- Malešev D et Kuntić V.**, 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society.*, 72 (10) : 921-939.
- Mandal S,Hazra B, Sarkar R, Biswas S, Mandal N.**, 2009. Assessment of the antioxidant and Reactive oxygen species scavenging activity of methanolic extract of *Caesalpinia crista* leaf. *ECAM*, doi:10.1093/ecam/nep072: 1 -11.
- Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritsch P.**, 2004 Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, médecine sciences, vol. 20, n° 4, p. 458-463.
- Markham K.R. .**, 1988. Distribution of flavonoids in the lower plants and its evolutionary significance. In *The Flavonoids: Advances in research since 1980*. Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall. London. pp 427-468.
- Markouk M, Redwane A, Lazrek HB, Jana M, Benjama A.**, 1999 -Antibacterial activity of *Cotula cinerea* extracts. *Fitoterapia*; 70: 314-316.
- Mason T L and Wasserman B P.**, 1987. Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry*, 26, 2197-2202.
- Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M.**, 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.*, 103: 778-786.
- Merken H.M and Beecher G.R.**, 2000. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*48(3), 577-599.

- Mieyal J.**, 1978. Mechanism of enzyme like reactions involving human hemoglobin. Bioorganic chemistry, vol IV, Van Tamelen. *Acad. Press*, New York, 315 -348.
- Mohammedi Z.**, 2006. Etude du Pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huiles Essentielles et Flavonoïdes de Quelques Plantes de la Région de Tlemcen. Thèse Magister, Université A. Belkaïd, Tlemcen. 135p.
- Morel Jean-Michel.**, 2008. Traité pratique de Phytothérapie, 618 pages, Préface de Jean-Marie Pelt, Ed : Grancher.
- Muanda F N.**, 2010. Identification de polyphénols , évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques .Thèse de Doctorat de l'Université Paul Verlaine-Metz.France. 160p.
- Mulot M A.**, 2004. Les Secrets d'une Herboriste ; Éditeur : Editions du Dauphin, ISBN : 2716312753, P .220.
- Muratet A. et Duron Q.**, 2012 - La clé des champs, Flore des bordures herbacées des milieux agricoles, Nature Paris, Muséum National d'Histoire Nationale, 127 p
- Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R.**, 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.*, 33 : 2-16.
- Natividade J.**, 1956. Subériculture, édition française de l'ouvrage portugais «Subéricultura», ENEF (Nancy), 103p.
- Navin AV., Mohana T., Sivasitamparam ND.**, 2012. Anti inflammatory and anti-apoptotic effects of *Crataegu oxyacantha* on isoproterenol-induced myocardial damage Molecular and Cellular Biochemistry , Volume 367, Issue 1-2, pp 1.
- Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., Van Norren K. et Van Leeuwen P. A. M.**, 2001. Flavonoïd : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American journal of clinical nutrition.*, 74 : 418-425.
- Nurmi T.; Voutilainen S.; Nyssönen K.; Adlercreutz H.; Salonen J. T.**, 2003. Liquid chromatography method for plant and mammalian lignans in human urine. *Journal of chromatography* 798:101 - 110.
- Offord E.A., Mace K., Ruffieux C., Malnoe A., Pfeifer A.M.**, 1995. Rosemary components inhibit benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis .Pub-Medline* :16 (1995) 2057-2062.
- Oyaizu M.**, 1986. Studies on products of browning reaction- Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition.* 44, 307–315.
- Ozenda P.**, 1977. Flore du Sahara. 2^{ème} édition .Ed : Centre National de la Recherche scientifique. Paris. 318-320.
- Ozenda P.**, 1991. Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS, Paris. 662 p.
- Panovska TK., Kulevanova S and Stefova M.**, 2005. *In vitro* antioxidant activity of some *Teucrium* sp. (*Lamiaceae*). *Acta Pharma*, 55, 207-214.
- Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A. et Korant B. D.**, 1993. Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products.*, 56 (8) : 1426-1430.
- Pérez M. B, Calderón N. L et Croci C. A .**, 2007. Radiation–induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food chemistry.*, 104 : 585-592.
- Pérez MB., Calderón NL. et Croci CA.**, 2007. Radiation–induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food chemistry.*, 104 : 585- 592.

- Piazzetta R.**, 2005. La levée du liège, guide technique et de vulgarisation, institut méditerranéen du liège. 23p.
- Pietta P.**, 2000. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products* 63(7), 1035-1042
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O.**, 2002. Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.
- Piquemal G.**, 2008. Les flavonoïdes (en ligne) : http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215.
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M**; 2001. (Eds.). Antioxidants in Food: Practical Application. Cambridge: *Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC*.
- Pottier-Alapetite G.**, 1979. Flore de la Tunisie. Volume 1. Publié par les soins de A. Nabli. Tunis, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et Ministère de l'Agriculture, 612 p.
- Pottier-Alapetite G.**, 1979. Flore de la Tunisie. Volume1. Publié par les soins d'A. Nabli .Tunis, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et Ministère de l'Agriculture, 612p.
- Prakash, D., Upadhyay, G., Brahma, N., Singh, H.B.**, 2007. Singh antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*. 104: 783-790.
- Pureva O., Oyun Kh., Odontuya G. , Tankhaeva AM. , Nikolaeva GG. , Khanb KM., Ali Shah ST and Voelter W.**, 2002 -Isolation and Structure Elucidation of Two New Xanthones from *Gentiana azureum* Bunge (Fam. Gentianaceae), *Z. Naturforsch.*57 b, 331-334
- Quézel P. & Santa S.**, 1962-1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 2 vol. 1170 p.
- Rached W .**, 2009. Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de magistère, Univ. d'Oran. 120p.
- Radulescu V., Silvia C., et Eliza O.**, 2004. Capillary gas chromatography-massspectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. *Journal of Chromatography A.*, 1027 : 121-126.
- Rodzko V.**, 2000. Liste alphabétique des plantes médicinales Abécédaire de Phytothérapie. Éditions Interactive, 2 p.
- Sa'ad F.**, 1967. The *Convolvulus* species of the Canary Isles, the Mediterranean region and the Near and Middle East. *Meded. Bot. Mus. Herb. Utrecht* 281. 288p.
- 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.
- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y., Fujisawa S.**, 2005. Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* 66: 2108 - 2120.
- Sami G. Alsabri, Abdumottaleb E. Zetrini1, Nouri B. Ermeli, Salah B. Mohamed, Salah M. Bensaber, Anton Hermann and Abdul Gbaj .**, 2012. Study of eight medicinal plants for antioxidant activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, , 4(8):4028-4031.
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. A .**,1998 .Procedure to measure the antioradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric.*; 76:270-276.
- Sandhar H K, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M and Sharma P.**, 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 25-41.

- Sannomiya M., Fonseca V B., Da silva M A., Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S, Vilegas W.**, 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 1- 6.
- Sanogo, R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumon, C., Bougoudougou, F.**, 2006. Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Medical*, 1: 18-24.
- Sarni-Manchado P. et Cheynier V.**, 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. p210.
- Scalbert A.**, 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Singletary KW, Nelshoppen JM.**, 1991. Inhibition of 7,12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of *in vivo* formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer Lett.* 60(2):169-75.
- Singleton V.L, Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M.**, 1999. Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299, 152-178.
- Smati D, Longeon A, Mi Guyot M.**, 2004. 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara, *Journal of Ethnopharmacology* 95 ; 405–407.
- Smati D.**, 2009. Contribution à l'étude de *Zygophyllum* utilisés en médecine traditionnelle algérienne. Thèse Doctorat , p 309.
- Song JH.**, 2008. What's new on the antimicrobial horizon?. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32 (4), 207-213.
- Soobrattee M.A., Baborun T, Neergheen V.S., Googoolye K. an Aruoma O.I.**, 2008. Assessment of the content of phenolics and antioxidant actions of the *Rubiaceae*, *Ebeanaceae*, *Celastraceae*, *Erythroxylaceae* and *Sterculaceae* families of Mauritian endemic plants. *Toxicology in vitro*, 45-56
- Souza C. R. F., Schiavetto I. A., Thomazini F. C. F. et Oliveira W. P.**, 2008. Processing of *Rosmarinus officinalis* L. extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering*, 25 (1) : 59-69.
- Stalikas C. D.**, 2007. Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science* 30:3268-3295.
- Surveswaran S. ; Cai Y.Z. ; Corke H. and Sun M.**, 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food chemistry*, 102, 872-879.
- Then M.,R. Szöllösy, K. Vászrhelyi-Perédi, K. Szentmihályi.**,2012. Polyphenol-, Mineral Element Content and Total Antioxidant Power of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts.ISHS Acta Horticulturae 629: XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants.
- Tim T. P. C.**, et **Lamb A. J.**, 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents.*, 26 : 343-356.
- Upton T.M. & Jury S.L.**, 2002. A revision of native Moroccan species of *Lavandula* L. section *Pterostachas* Ging. (*Lamiaceae*). *Taxon*51: 309-327.
- Valko, M., Rhodes, C.JB, Moncol J., Izakovic M., Mazur M.**, 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 160: 1-40.
- Van Wyk, Braam AE. & Van Wyk P.**, 1997. Field guide to trees of southern Africa. Struik, Cape Town.
- Virgili FY., Scaccini C.**, 2001, "Enfermedades cardiovasculares y sustancias fenolicas nutricionales", Pokorny, J.,Yanishlieva ,N., Y Gordon, M., "Antioxydantes De Los Alimentos",Editorial Acribia , S .A ., Zaragoza,Espara,P.102 .

- Wang W, Wu N, Zu Y. G et Fu Y. J .**, 2008. Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry*. **108** (3) : 1019-1022.
- Waridel P.**, 2003. Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* L. (*Potamogetonaceae*). Thèse de Doctorat, Université de Lausanne.
- Werner F., Paul, O, Rainer A.**, 1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *J. of Entbo Pharmacology*, 60: 79-84.
- Winther A.M.L.**, 2010. Critical Roles of Hydrophobicity and Orientation of Side Chains for Inactivation of Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase with Thapsigargin and Thapsigargin Analogs. *J Biol Chem*. 285, 28883-28892.
- Wojdylo, A., J. Oszmiański, and R Czemerzys.**, 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105:940-949.
- Xia E Q, Deng G F, Guo Y J and Li H B .**,2010. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646.
- Yessad S.A.**, 2000. Le chêne-liège et le chêne dans les pays du méditerrané occidental. Edition ASBL foret Wallonne. 190P.
- Younsi S.**, 2006. Diagnostic des essais de reboisement et de régénération du chêne liège (*Quercus suber* L.) dans la région de Jijel. Thèse de Magister, Univ. Mantouri, Constantine, 104p.
- Zaouli J., Messaoud C. & Boussaïd M.**, 2003. Diversité génétique des populations naturelles de *Rosmarinus officinalis* L. (*Lamiaceae*) en Tunisie. *Ecologia mediterranea* 29 (2): 199-216.
- Zeraia L.**, 1981. Essai d'interprétation comparative de données écologiques, phénologiques et de production subero-ligneuse dans les forêts de chêne-liège de Provence cristalline.(France Méridionale) et d'Algérie, Thèse Doctorat, Univ. d'Aix Marseille Saint Jérôme, 367 P.
- (<http://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-recherche.php>)
- (http://www.Africamuseum.be/collection/external/prelude/view_plant)
- (<http://davesgarden.com/guides/pf/showimage>)
- (http://sophy.u-3mrs.fr/Photo-cp/Osm/Osyris_quadripartita)
- (<http://www.jardin-ecologique.fr/collestion-de-lavandes>)
- (<http://penninckxplantes.penninckx.org/Quercussuber.php>)
- (http://www.anthos.es/imagenesplantas/Periploca_laevigata_1_JL1_COL.jpg2013)

ANNEXE

Expression des résultats des polyphénols totaux :

On prend comme un exemple de *Quercus Suber* (feuilles + tiges) (présente la plus forte teneur en polyphenols) qui présente une DO de 2,062

D'après la courbe d'étalonnage on a l'équation suivante :

$$\begin{aligned} y=45.71x+0.008 & \longrightarrow x=(y-0.008)/45.71 \quad \text{avec } y = \text{DO} \\ & \longrightarrow x= (2.062-0.008)/45.71 \\ & x= 0.045 \end{aligned}$$

On divise cette valeur par 1/21 qui correspond au facteur de dilution de notre échantillon ($\delta= 100\mu\text{l}$ (volume déposé de l'échantillon)/2100 μl (volume réactionnel)=1/21).

$$\text{Donc } x' =x/1/21= 0.924\text{mg/ ml .}$$

La solution mère de *Quercus Suber* (feuilles + tiges) est à 2mg/ml.

La valeur de l'absorbance obtenue à partir de cette solution est supérieure à 2 donc on a fait une dilution de 2 fois et on a obtenu une $A =2.062$.

$$\begin{aligned} \text{On a : } \quad 0.924 \text{ mg /ml} & \longrightarrow 10^{-3} \text{ g/ml} \\ X'' & \longrightarrow 2\text{g} \end{aligned}$$

$$X'' =462 \text{ mg/g}$$

Donc *Quercus Suber* (feuilles + tiges) contient 462 mg de polyphénols totaux par g d'extrait sec.

➤ Expression des résultats des Flavonoïdes :

On prend comme un exemple de *Quercus Suber* (feuilles + tiges qui présente une DO de 0.686

D'après la courbe d'étalonnage on a l'équation suivante :

$$\begin{aligned} y=5.411x+0.002 & \longrightarrow x=(y-0.002)/5.411 \quad \text{avec } y = \text{DO} \\ & \longrightarrow x= (0.686-0.002)/5.411 \\ & x= 0.126\text{mg /ml .} \end{aligned}$$

On divise cette valeur par 5.6 qui correspond au facteur de dilution de notre échantillon ($\delta= 500\mu\text{l}$ (volume déposé de l'échantillon)/2800 μl (volume réactionnel)=1/5.6).

$$\text{Donc } x' =x/1/5.6= 0.609\text{mg/ ml .}$$

La solution mère de *Quercus Suber* (feuilles + tiges) est à 2mg/ml.

La valeur de l'absorbance obtenue à partir de cette solution est supérieure à 2 donc on a fait une dilution de 2 fois et on a obtenu une $A = 0.524$.

On a : 0.609 mg /ml \longrightarrow 10^{-3} g/ml

X'' \longrightarrow 2g

$$X'' = 232.93 \text{ mg/g}$$

Donc *Quercus Suber* (feuilles + tiges) contient 232.93 mg de Flavonoïdes par g d'extrait sec .