

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{me} BENKORICH FAIROUZE

M^{lle} BELHANAFI AHLEM HANANE

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Pharmaco & Toxicologie

THEME

Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts et de certains composés bioactifs de *Visnaga Daucoides Gaertn* utilisée dans le traitement du Vitiligo

DEVANT LE JURY

| | | | |
|--------------|---------------------------------------|-----|---------------|
| Présidente | M ^{me} MISSOUN FATIHA | MCA | U. Mostaganem |
| Examinatrice | M ^{me} AMARI NESRINE OUDA | MCA | U. Mostaganem |
| Promotrice | M ^{me} BENHAMIMED EL-ATTAFIA | MCA | U. Mostaganem |

Année universitaire : 2021-2022

Dédicace

✍ J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

À la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à la source de ma vie et de mon bonheur, à ma mère **Halima** que dieu la protège.

✍ À mon père **Ahmed**, ce travail est le fruit de ton éducation, Toi qui es toujours la source de ma force et de mon endurance, Je te remercie d'avoir toujours cru en mes rêves, Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que tu n'as jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

✍ À mes merveilleux frères **ABDELLAH** et **MOHAMMED ABDELOUAHAB** et mes sœurs **RACHIDA** et **AMEL**, pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse, qui en plus de m'avoir encouragé tout le long de mes études, m'ont consacré beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien, leurs conseils et leur amour, m'ont permis d'arriver jusqu'à ici car ils ont toujours cru en moi.

✍ A mon cher mari **ABDELBAKI** Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.

✍ À ma très chère **Asma et Soumia Azzouz**, tu es une rencontre exceptionnelle, Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude envers toi, Tu m'as soutenu, tu as pris soin de moi dans les moments difficiles, Tu as été une compagne en or, Merci pour ton amitié, ta générosité et ta serviabilité, Qu'Allah te procure tout le bonheur que tu mérites.

✍ A mon binôme **Ahlem Hanane** je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

✍ **FAIROUZE**

Dédicace

Alhamdoulillah, louange à Allah qui nous a accordé assez de chance et de succès pour atteindre ce niveau.

✍ Je dédie cet humble travail

Au plus chères de ma vie et plus proches à mon cœur pupille de mes yeux ce sont **mes parents**

✍ A celle qui par sa tendresse, sa chaleur, son amour j'ai grandi et appris tous les nécessaires à ma formation elle était mon guide et mon soutien, elle est la splendeur des splendeurs, c'est **ma mère** je l'aime beaucoup.

✍ A mon bras droit et mon cerveau à mon guide dans mes études à celui qui m'a donné tout son savoir et qui m'a appris à réfléchir à détecter le vrai du faux c'est ma fierté ma joie de vivre c'est **mon cher père**.

✍ A ma sœur et mon amie et toute ma vie elle m'encourage toujours elle était ma confidente et ma conseillère c'est ma chère **ZAKIA**. Sans oublier son mari le gentil et amical **OMAR** et mes neveux le bonheur de ma vie **ISSRAE, ABDELRAZAK** et **MOHAMED AMIN**.

✍ A tous et ceux que mon cœur a désigné avant que mon stylo les écrivent ils ont partagé ma vie dans la joie et les mauvais moments sous le même toit ce sont mes chers frères **MOHAMED AMIN** et **ABDELKADER**

✍ A mes grands-parents paternels et maternels qu'ils reposent en paix

✍ A toute ma famille **BELHANAFI & BELKAIDE** Abdi

✍ A mon binôme **FAIROUZE** et ma meilleur ami **SARAH** et tous mes amis et mes collègues qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

✍ **AHLEM HANANE**

Remerciements

Tout d'abord, nous tiens à remercier Allah, Le clément et la miséricorde de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

*Nous remercions chaleureusement notre directrice de mémoire M^{me}. **BENHAMIMMED A.** pour ses aides, ses encouragements et ses conseils judicieux durant toute la période de notre travail.*

Nos vifs remerciements vont également :

A tous les membres de jury :

*M^{me}. **MISSOUN F.** Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider les membres de jury de notre mémoire. Nous avons beaucoup apprécié votre vigueur scientifique et votre dynamisme professionnel.*

*M^{me}. **AMMARI O N.** Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour l'honneur que vous me faites de bien vouloir d'examiner notre mémoire. Vos qualités humaines et professionnelles, font de vous un enseignant aimé de tous. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de notre profonde estime et mon grand respect.*

Un grand merci va :

*A **BELMERDJA RACHIDA** ingénieur d'état de laboratoire biochimie N° 03 pour leur gentillesse et leur soutien pendant toute la période de notre stage.*

A toute l'équipe des laboratoires de biochimie et microbiologie au niveau de l'université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, qui nous ont beaucoup aidé à la réalisation pratique de ce travail.

Liste des abréviations

- ✂ **Abs** : absorbance
- ✂ **ATP** : adénosine triphosphate
- ✂ **ADN** : acide désoxyribonucléique
- ✂ **ABTS** : 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acides
- ✂ **[C]** : Concentration
- ✂ **C40H56** : β carotène
- ✂ **C4H6O3** : éther de pétrole, anhydride acétique
- ✂ **CoQ10** : Coenzyme Q10
- ✂ **DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
- ✂ **EOA** : oxygénées activées
- ✂ **Fe 3+** : Ion ferrique
- ✂ **Fe2+** : Ion ferreux
- ✂ **FeCl3** : Chlorure de fer
- ✂ **FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer
- ✂ **g** : gramme
- ✂ **GSH** : glutathion réduit
- ✂ **GSSG** : glutathion oxydé sous forme disulfide
- ✂ **GPX** : glutathion peroxydase
- ✂ **HO•** : Radical hydroxyle
- ✂ **HOCl•** : Acide hypochlorique
- ✂ **H2O** : eau
- ✂ **IC50** : Concentration d'inhibiteur requise pour produire 50% d'inhibition
- ✂ **ICAM-1** : Intercellulaire adhésion molécule 1
- ✂ **IV** : Intraveineux
- ✂ **mg** : Milligramme
- ✂ **Mg** : tournures de magnésium
- ✂ **Mo** : molybdène
- ✂ **NO** : l'oxyde d'azote
- ✂ **O2•-** : Anion superoxyde
- ✂ **O2** : dioxygène
- ✂ **PPM** : PhosphoMolybdate
- ✂ **Ps** : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

- ✂ **Pp** : Poids de la poudre en gramme (g).
- ✂ **RNS** : Espèce réactive d'azote.
- ✂ **ROOH** : hydro peroxydes organiques
- ✂ **ROS** : Réactive Oxygène Spécifs
- ✂ **R•** : Radical alkyles
- ✂ **ROO•** : Radical pyroxyde
- ✂ **SOD** : superoxyde dismutase
- ✂ **TNF- α** : Tumor necrosis factor
- ✂ **ec-SOD** : SOD extracellulaire
- ✂ **Cu/Zn SOD** : SOD cuivre/zinc
- ✂ **UV** : Ultra-violet
- ✂ **UVB** : Ultra-violets B
- ✂ **%** : Pourcentage
- ✂ **°C** : Degré Celsius
- ✂ **μ l** : Microlitre
- ✂ **1O_2** : Oxygène singulet

Liste des figures

- Fig. 1** : Cas de vitiligo se développant sur les mains.
- Fig. 2** : Cas de vitiligo symétrique sur les jambes.
- Fig. 3** : Cas de vitiligo muqueux.
- Fig. 4** : Structure du noyau phénol.
- Fig. 5** : Structure de base des flavonoïdes.
- Fig. 6** : Structure de base des lignanes.
- Fig. 7** : Représentation topologique du stilbène.
- Fig. 8** : Structure de base des Saponines.
- Fig. 9** : Structure chimique des tanins condensés.
- Fig. 10** : Structure de tanin hydrolysable.
- Fig. 11** : Structure des coumarines.
- Fig. 12** : Structure chimique d'un Terpenoïdes.
- Fig. 13** : Représentation topologique des alcaloïdes.
- Fig. 14** : Formule développée et modèle du β -carotène.
- Fig. 15** : *Visnaga daucoïdes Gaertn* fraîche au stade de floraison.
- Fig. 16** : plante de *Visnaga daucoïdes Gaertn* Séché.
- Fig. 17** : Les graines *Visnaga daucoïdes Gaertn*.
- Fig. 18** : Plante de *Visnaga daucoïdes Gaertn* broyée.
- Fig. 19** : La filtration à l'aide du papier filtre.
- Fig. 20** : schéma du dosage des tanins.
- Fig. 21** : Courbe d'étalonnage de catéchine.
- Fig. 22** : Courbe d'étalonnage de Quercétine.
- Fig. 23** : Courbe d'étalonnage de DPPH.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification classique de la plante *Visnaga daucoïdes* Gaertn.

Tableau 2 : différents composants de *Visnaga daucoïdes* Gaertn.

Tableau 3 : Les rendements des trois extraits de notre plante exprimé en pourcentage.

Tableau 4 : Résultats d'extraction avec macération.

Tableau 5 : Résultats d'extraction avec décoction.

Tableau 6 : Teneurs des extraits aqueux de *Visnaga aucoïde* Gaertn en tannins.

Tableau 7 : Teneurs des extraits aqueux de *Visnaga daucoïde* Gaertn en Flavonoïde.

Tableau 8 : Teneurs de DPPH

Résumé

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des territoires du pays. *Visnaga daucoïdes Gaertn* est une espèce largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour le traitement de diverses maladies, c'est le cas notamment du vitiligo qui est une maladie auto-immune se manifestant par une perte des cellules pigmentaires de la peau et pouvant également entraîner des répercussions sur la qualité de vie des patients. L'intérêt de ce travail est de déterminer la présence de quelques composés actifs et l'évaluation du potentiel antioxydant de cette espèce, le screening phytochimique révèle la présence des composés phénoliques, notamment, les flavonoïdes et les tanins dans l'extrait aqueux et l'analyse quantitative montre une quantité de 5, 116±0,004 mg EAG/g) en flavonoïdes totaux et 1.429±0,005 mg EC/g en tanins. L'évaluation du pouvoir antioxydant est réalisé par la méthode du radical libre DPPH indique que l'extrait aqueux a montré une bonne efficacité antioxydante avec IC50 de IC50 = 3,023± 0,146 mg/ml ce qui lui confère d'être exploité dans l'industrie pharmaceutique.

Mots clés : Vitiligo, *Visnaga daucoïdes Gaertn*, étude phytochimique, activité antioxydante

Abstract

Algeria is recognized for its varietal diversity in medicinal and aromatic plants, as well as their various popular uses in all the territories of the country. *Visnaga daucoides* Gaertn is a species widely used in traditional Algerian medicine for the treatment of various diseases, this is particularly the case of vitiligo which is an autoimmune disease manifested by a loss of pigment cells in the skin and which can also have impact on the quality of life of patients. The interest of this work is to determine the presence of some active compounds and the evaluation of the antioxidant potential of this species, the phytochemical screening reveals the presence of phenolic compounds flavonoids and tannins in the aqueous extract and the Quantitative analysis shows a quantity of 5.116 ± 0.004 mg EAG/g) in total flavonoids and 1.429 ± 0.005 mg EC/g in tannins. The evaluation of the antioxidant power is carried out by the method of the free radical DPPH indicates that the aqueous extract showed a good antioxidant efficiency with IC₅₀ of $3,023 \pm 0,146$ mg / ml which gives it to be exploited in the pharmaceutical industry.

Keywords: Vitiligo, *Visnaga daucoides* Gaertn, phytochemical study, antioxidant activity.

الملخص

تشتهر الجزائر بتنوعها المتنوع في النباتات الطبية والعطرية، فضلاً عن للخلة استخدامات الشعبية المتنوعة في جميع هو نوع يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري لعلاج الأمراض المختلفة، وخاصة حالة مناطق البلاد البهاق وهو مرض مناعي ذاتي يتجلى من خلال فقدان الخلايا الصبغية في الجلد والذي يمكن أن يكون له أيضاً تأثير على الجودة من حياة المرضى. الهدف من هذا العمل هو تحديد وجود بعض المركبات النشطة وتقييم القدرة المضادة للأكسدة لهذه الأنواع، يكشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مركبات الفينول، على وجه الخصوص، الفلافونويد (جم) في مركبات EAG / والعفص في المستخلص المائي ويظهر التحليل الكمي كمية 0.005 ± 5.116 مجم جم في العفص. يتم تقييم قوة مضادات الأكسدة بطريقة الجذور الحرة / EC الفلافونويد الكلية و 0.004 ± 1.429 مجم مل / ميليغرام 3,023 من IC50 مما يشير إلى أن المستخلص المائي أظهر كفاءة جيدة كمضاد للأكسدة مع DPPH مما يعطيها ليتم استغلالها في صناعة الأدوية.

.الكلمات المفتاحية: البهاق، دراسة الكيمياء النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، الخلة.

| | |
|-------------------------------|--|
| Dédicace | |
| Remerciements | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Résumé | |

Table de matière

Synthèse bibliographique

| | |
|--------------------------|----------|
| Introduction..... | 1 |
|--------------------------|----------|

Chapitre 01 : Aperçu général sur le Vitiligo

| | |
|--|-----------|
| I.1. Généralités sur le Vitiligo..... | 4 |
| I.2. Historique..... | 5 |
| I.3. Epidémiologie..... | 5 |
| I.4. Types du vitiligo..... | 6 |
| I.4.1. Vitiligo segmentaire (Localisé)..... | 6 |
| I.4.2. Vitiligo non segmentaire (vulgaire ou généralisé)..... | 6 |
| I.4.3. Vitiligo universel..... | 7 |
| I.4.4. Le vitiligo muqueux..... | 7 |
| I.5. Etiologie..... | 8 |
| I.5.1. génétiquesI..... | 8 |
| I.5.2. Facteurs environnementaux..... | 8 |
| I.5.3. Auto-immunes..... | 8 |
| I.5.3.1. Auto-anticorps..... | 8 |
| I.5.3.2. Immunité à médiation cellulaire..... | 9 |
| I.5.3.3. Théorie neurale..... | 9 |
| I.6. Diagnostic..... | 9 |
| I.7. Maladies accompagnatrices fréquentes..... | 9 |
| I.8. Traitements..... | 10 |
| I.8.1. Thérapies topiques (local)..... | 10 |

| | |
|---|----|
| I.8.1.1. Dermocorticoïdes..... | 10 |
| I.8.1.2. Tacrolimus..... | 10 |
| I.8.1.3. Camouflage par des cosmétiques..... | 11 |
| I.8.2. Traitements systémiques..... | 11 |
| I.8.2.1. Corticostéroïdes..... | 11 |
| I.8.2.2 Photothérapie..... | 11 |
| I.8.3. Les traitements chirurgicaux..... | 12 |
| I.9. La supplémentation en vitamines et antioxydants..... | 12 |
| I.9.1. La vitamine B12 et l'acide folique..... | 12 |
| I.9.2. L'acide para-amino-benzoïque..... | 12 |
| I.9.3. Les antioxydants..... | 12 |
| I.10. Traitements psychiques | 13 |
| I.11. Traitements à base des plantes médicinales..... | 13 |

Chapitre 02 : Les métabolites secondaires

| | |
|--|----|
| II.1. Définition..... | 15 |
| II.2. Classification des métabolites secondaires..... | 15 |
| II.3. Les composés phénoliques..... | 15 |
| II.3.1. Définition et structures chimiques..... | 15 |
| II.3.2. Biosynthèse des polyphénols..... | 16 |
| II.3.2.1. Voie de l'acide shikimique..... | 16 |
| II.3.2.2. Voie de l'acétate..... | 16 |
| II.3.3. Propriétés biologiques des polyphénols..... | 17 |
| II.4. Les acides phénoliques..... | 17 |
| II.4.1. Les flavonoïdes Définition et structures chimique..... | 17 |
| II.4.1.1. Classification des flavonoïdes..... | 18 |
| A. Flavones et flavanols..... | 18 |
| B. Flavanones et hydroflavonols..... | 18 |
| II.4.2. Quinones..... | 18 |
| II.4.3. Lignanes | 19 |
| II.4.4. Stilbènes..... | 19 |

| | |
|--|----|
| II.4.5. Saponines | 20 |
| II.4.6. Les tanins..... | 20 |
| II.4.6.2. Classification..... | 21 |
| A. Les tanins condensés (non hydrolysables)..... | 21 |
| B. Les tanins pyrogalliques (hydrolysables)..... | 21 |
| II.4.7. Les coumarines..... | 22 |
| II.5. Les Terpenoïdes Définition et structureschimiques..... | 22 |
| II.6. Les alcaloïdes..... | 23 |
| II.6.2. Classification des alcaloïdes..... | 23 |
| A. Les vrais alcaloïdes..... | 23 |
| B. Les pseudo-alcaloïdes..... | 24 |
| C. Les proto-alcaloïdes..... | 24 |

Chapitre 03 : Les antioxydants

| | |
|---|----|
| III.1. Stress oxydant..... | 26 |
| III.2. Radicaux libres..... | 26 |
| III.3. Généralités sur les antioxydants | 26 |
| III.4.Type des antioxydants..... | 27 |
| III.4.1. Les antioxydantes non enzymatique..... | 27 |
| A. La vitamine C..... | 27 |
| B. La vitamine E..... | 27 |
| C. Le Glutathion..... | 27 |
| D. Polyphénols..... | 28 |
| E. Acide lipoïque..... | 28 |
| F. β carotène..... | 28 |
| G. Coenzyme Q10..... | 29 |
| H. Caroténoïdes..... | 29 |
| I. Bilirubine..... | 30 |
| III.4.2. Les antioxydantes enzymatique..... | 30 |
| A. La superoxyde dismutase (SOD)..... | 30 |
| B. La catalase..... | 30 |
| C. Les glutathion peroxydases et réductases..... | 31 |
| III.5. Mécanisme d'action des antioxydants..... | 31 |
| A. Antioxydants primaires ou piègeur des radicaux libres..... | 31 |

| | |
|---|----|
| B. Antioxydants secondaire ou préventifs..... | 31 |
| III.6. L'identification de l'activité antioxydante..... | 31 |
| III.6.1. Le test de piégeage du radical DPPH..... | 32 |

Chapitre 04 : *Visnaga daucoides Gaertn*

| | |
|---|----|
| IV.1. Matériel végétal..... | 34 |
| IV.1.1. Description botanique..... | 34 |
| IV.1.2. Répartition géographique..... | 35 |
| IV.1.3. Classification botanique..... | 36 |
| IV.1.4. Composition chimique..... | 36 |
| IV.1.5. Utilisation traditionnelle et thérapeutique de la plante..... | 37 |

Etude expérimentale

Chapitre 05 : Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| V. 2. Méthodes..... | 39 |
| V.2. 1. Préparation des extraits végétaux..... | 39 |
| V.2.1.1. Séchage..... | 39 |
| V.2.1.2. Broyage..... | 39 |
| V.2.2. Appareils et réactifs utilisés..... | 40 |
| 1. Appareils utilisés..... | 40 |
| 2. Réactifs utilisés..... | 40 |
| V.3. Méthodes d'extraction de <i>Visnaga daucoides Gaertn</i> | 40 |
| V.3. 1. Décoction..... | 40 |
| V.3.2. Macération..... | 41 |
| V.4. Calcul du rendement..... | 41 |
| V.5. Screening phytochimique..... | 41 |
| V.5. 1. Identification des Quinones libres..... | 42 |
| V.5. 2. Identification des flavonoïdes..... | 42 |
| V.5.3. Identification des Tanins..... | 42 |
| V.5. 4. Identification des saponines..... | 42 |
| V.5. 5. Identification des Tanins vrais..... | 42 |
| V.5.6. Identification des Alcaloïdes..... | 42 |
| V.5.7. Identification des Stéroïdes et Polyterpènes..... | 43 |

| | |
|--|----|
| V.5.8. Identification des phénols..... | 43 |
| V.5.9. Identification des flavonoïdes glycosides..... | 43 |
| V.5.10. Identification des Sucres réducteurs..... | 43 |
| V.6. Analyse quantitative..... | 43 |
| V.6.1. Dosage des flavonoïdes..... | 43 |
| V.6.2. Dosages des tannins..... | 44 |
| V.6.3. Evaluation, in vitro, de l'activité antioxydante..... | 45 |
| ➤ Test du piégeage des radicaux DPPH..... | 45 |
| ➤ Mode opératoire..... | 45 |
| V. 7. Analyse statistique..... | 46 |

Chapitre 06 : Résultats et Discussions

| | |
|---|-----------|
| V I. Résultats de l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante..... | 48 |
| V I.1. Détermination du rendement d'extraction..... | 48 |
| V I.2. Criblage phytochimique..... | 49 |
| V I.3. Résultats des analyses quantitatives des métabolites secondaires..... | 54 |
| V I.3.1. Dosage des Tanins..... | 54 |
| V I.3.2. Dosage des Flavonoïdes..... | 55 |
| V I.4. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH..... | 56 |
| Discussion Générale..... | 58 |
| Conclusion et perspectives..... | 61 |
| Références Bibliographique..... | 63 |
| Annexes..... | 82 |

Introduction générale

Le vitiligo est une affection cutanée chronique connue depuis des temps immémoriaux, affecte près de 1 à 2% de la population mondiale. Cette maladie caractérisée par une perte acquise des cellules responsables de la pigmentation cutanée ; les mélanocytes. Il en résulte des macules blanches souvent de disposition relativement aléatoire, qui augmentent généralement de taille avec le temps. **(BELHOUARI M., 2008)**

Il n'existe à ce jour aucun traitement curatif du vitiligo. La prise en charge des patients a actuellement pour but d'induire une repigmentation ou une dépigmentation totale ou de camoufler les lésions existantes. L'absence d'étiologie claire et de traitement efficace maintient ainsi le patient dans un état de stress et de crainte quant à l'aggravation de la maladie. De plus, les patients atteints de vitiligo éprouvent de graves effets psychologiques et présentent une anxiété, une dépression, une stigmatisation sociale et une qualité de vie altérée. **(KLUGER N., 2008)**

Les plantes médicinales peuvent offrir de larges réponses aux problèmes complexes des maladies dermatologiques comme le vitiligo, et des perspectives thérapeutiques complémentaires aux traitements conventionnels ; les effets bénéfiques de ces plantes médicinales sont associés à la présence de métabolites secondaires qui sont considérés comme des principaux éléments bioactifs de la médecine traditionnelle, et notamment les composés phénoliques, les Terpénoïdes et les alcaloïdes, entre autres. Par conséquent, leur importance pour la santé humaine est liée à leurs activités antioxydantes, à l'élimination des radicaux libres et à la prévention d'une grande variété de maladies chroniques et neurodégénératives. **(AMMOUR A. et ZAAF S., 2020)**

Plusieurs remèdes à base de plantes sont proposés pour traiter le vitiligo. Comme le stress oxydatif est largement considéré comme l'un des facteurs causaux probables dans l'initiation des lésions du vitiligo. Par conséquent, les propriétés protectrices, anti oxydatives et anti-stress de certaines plantes médicinales peuvent contribuer à l'amélioration des taches blanches hypopigmentées du vitiligo, car celles-ci renferment une part importante de composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. **(OYEDEMI S O. et AFOLAYAN A G., 2011).**

Notre présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts et de certains composés bioactifs de *Visnaga daucoides Gaertn* utilisé dans le traitement du *vitiligo*.

Cette étude entre dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles en vue d'apporter de nouvelles informations les métabolites secondaires de cette plante afin de standardiser leurs usages et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels.

Notre travail est subdivisé en trois parties :

- ❖ La première partie constitue une synthèse bibliographique regroupant trois chapitres dont le premier donne un aperçu général sur le vitiligo, le seconde se focalise sur une présentation des principaux métabolites secondaires des plantes et le troisième chapitre inclut des généralités sur l'activité anti-oxydant.
- ❖ La seconde partie concerne l'étude expérimentale qui décrit le matériel végétal utilisé, les méthodes et les procédés d'extraction ainsi que les analyses qualitatives et quantitatives des principaux métabolites secondaires et finalement l'évaluation de l'activité antioxydante *vis-à-vis* du radical libre DPPH.
- ❖ La troisième partie synthétise l'ensemble des résultats obtenus suivie par une discussion générale, aboutissant à une conclusion et perspectives.

Partie théorique

Chapitre I Aperçu général sur le vitiligo

I.1. Définition

Le vitiligo est une maladie chronique acquise se manifestant principalement par la perte progressive des mélanocytes contenus dans l'épiderme du patient. Cette maladie se traduit par une dépigmentation graduelle de la peau du patient de manière relativement aléatoire. Le vitiligo reste toutefois asymptomatique, c'est-à-dire qu'il n'a pas d'incidence sur la santé physique du patient et son espérance de vie reste inchangée. **(PLOURDE P., 2016)** Bien qu'assez peu connu, le vitiligo est une maladie fréquente puisqu'on estime que 0,5 à 1% de la population mondiale serait concerné, peu importe le sexe ou les caractéristiques de la peau, le vitiligo n'est pas contagieux, et la cause exacte n'est pas encore clairement définie, suggérant que le vitiligo possède les caractéristiques d'une maladie auto-immune, c'est-à-dire que l'organisme du patient s'attaque lui-même aux mélanocytes via ses propres défenses immunitaires. Il est le plus souvent associé à d'autres maladies (pelade, thyroïdite, eczéma...). Des traitements médicaux mis à l'essai durant les 20 dernières années, sont rarement efficaces. **(BELHOUARI M., 2008)**. Le vitiligo a été, jusqu'à récemment, une zone plutôt délaissée en dermatologie et en médecine d'une façon générale. Les patients qui se plaignent de cette situation handicapante, leurs causant un état de sous-estime de soi, offrent des chances d'arnaque aux charlatans. D'autant plus, qu'il existe certains praticiens qui ne considèrent pas le vitiligo comme étant une véritable maladie cutanée, mais, juste un simple problème esthétique. Les effets de cette maladie, qui défigure cosmétiquement la peau, se répercutent négativement sur la qualité de vie des patients (troubles émotionnels, stress). **(BARJIJ I., 2015)**



Fig. 01 : Cas de vitiligo se développant sur les mains **(PLOURDE P., 2016)**

I.2. Historique

Le vitiligo est connu depuis des temps immémoriaux. En effet, il est fait mention du vitiligo pour la première fois au temps des pharaons sur le papyrus d'Ebers (c'est le plus ancien des traités scientifiques connus, il contient des notions d'anatomie, un exposé de cas pathologiques et les traitements correspondants, ainsi que sept cents recettes de médicaments). La première description précise du vitiligo, a été réalisée en 1911 par Pearson. **(BIBI K., 2008)** Les premiers essais thérapeutiques pour obtenir une repigmentation du vitiligo ont été réalisés aux alentours de 1400 av. J.-C. Au 11e siècle de notre ère Ibn El Bitar a décrit un traitement du vitiligo associant des expositions solaires répétées à la prise de graines d'une plante qui pousse abondamment dans la vallée du Nil et qui est " Visnaga daucoïde Gaertn. En 1911, les psoralènes ont été pour la première fois extraits des plantes. Dès 1941 des recherches ont été effectuées en Egypte sur les vertus thérapeutiques des psoralènes vis-à-vis du vitiligo. El Mofty en 1948 fut le premier médecin à traiter des patients porteurs de vitiligo avec des comprimés de 8 Methoxypsoralen (Meladinine). Les psoralènes peuvent être extraits à partir de nombreuses plantes. A partir de 1970, Parrish a proposé l'utilisation des psoralènes associés à l'exposition aux UVA en cabine. Le traitement de vitiligo avec dermocorticoïdes fût introduit par Tsukada en 1959. En 1977, Koga a utilisé divers dermocorticoïdes et a découvert que le visage et le cou ont répondu mieux que d'autres parties du corps de l'organisme. **(MELHAOUI H. et BENABDALLAH K., 2010)**

I.3. Epidémiologie

Le vitiligo est une affection répandue dans le monde entier, sa prévalence globale est estimée entre 0,1% et 2% avec une grande variabilité selon les groupes ethniques. D'autres études internationales montrent que l'incidence du vitiligo varie de 0,1 jusqu'à plus de 8,8%. La plus forte incidence de la maladie a été enregistrée chez les Indiens du sous-continent indien, suivis par le Mexique et le Japon. **(BARJIJ I., 2015)**

Toutes les parties du corps peuvent être touchées, avec une nette prédominance pour le visage (autour de la bouche et des yeux), les pieds, les mains, et au niveau des zones de frottements (genoux, coudes ...) Les plaques ont tendance à augmenter en volume et en nombres avec le temps, et la maladie peut évoluer vers une dépigmentation totale ou rester localisée. **(THIBAUT G., 1991)**

I.4. Types du vitiligo

Les différents types de vitiligo sont classés en fonction de la localisation des lésions. Il en existe actuellement quatre types :

I.4.1. Vitiligo segmentaire (Localisé)

Le vitiligo segmentaire est une dépigmentation unilatérale qui correspond grossièrement à un territoire d'innervation. Le territoire de peau innervé par un nerf donné s'appelle dermatome. Le vitiligo segmentaire affecte un ou plusieurs dermatomes. Le visage est le plus fréquemment atteint (dans près de la moitié des cas il s'agit du territoire du nerf trijumeau) mais le vitiligo segmentaire peut se voir sur n'importe quelle partie du corps où il demeure unilatéral. Ce type de vitiligo se distingue des autres formes cliniques par un âge de début plus précoce. (YVON G., 2006)

Il existe également des vitiligos localisés où l'atteinte est limitée à une ou deux plaques, parfois l'aspect est limité à une zone de peau bien limitée, unilatérale (un seul côté du corps) et souvent en forme de bande. On parle alors de vitiligo segmentaire. Le traitement chirurgical par greffe pourra être proposé pour des vitiligos localisés et stables depuis au moins une année. (PASSERON T., 2015).

I.4.2. Vitiligo non segmentaire (vulgaire ou généralisé)

Le vitiligo vulgaire également appelé vitiligo bilatéral est la forme la plus fréquente de vitiligo. Les plaques sont dispersées et souvent bilatérales et symétriques. Il apparaît de façon préférentielle au niveau du visage, des mains et des pieds. (YVON G., 2006)

C'est la forme la plus courante, elle représente 90% des cas. Elle touche en premier le visage, les pieds et les mains et est évolutive. L'achromie touche souvent les zones de frottements ou de friction comme au niveau de la ceinture ou des aisselles par exemple. Les plaques sont nombreuses et bilatérales. Elles peuvent s'étendre ou rester assez petites. Parfois des démangeaisons annoncent l'arrivée d'une nouvelle tache blanche. Une décoloration des poils ou des cheveux peut également être observée : la leucotrichie. (GORZKOWSKI M., 2022)



Fig. 02 : Cas de vitiligo symétrique sur les jambes (AMOUR A., 2010)

I.4.3. Vitiligo universel

Le vitiligo universel se présente sous la forme de macules et de plaques dépigmentées sur la majeure partie du corps et peut être associé à un syndrome d'endocrinopathie multiple. (REBAT M. et al., 2009)

I.4.4. Vitiligo muqueux

Le vitiligo impliquant la muqueuse buccale et / ou génitale est désigné comme un vitiligo muqueux. Chez les personnes ayant un phototype clair, la muqueuse buccale est légèrement pigmentée malgré la présence de mélanocytes au niveau de l'épithélium buccal. Le gland, le vagin et la muqueuse anale sont des cibles potentielles du vitiligo. Chez la plupart des sujets atteints, généralement les lésions muqueuses sont associées à d'autres lésions cutanées dans d'autres parties du corps. L'atteinte muqueuse isolée est possible en l'absence de lésions cutanées à distance. C'est pour cette raison, le vitiligo buccal a été longtemps considéré comme assez rare. (AAMRI H., 2018)



Fig. 3 : Cas de vitiligo muqueux (CARLIER L., 2015)

I.5. Etiologie

Les causes semblent être d'ordre divers, de la prédisposition génétique aux facteurs déclenchants tels que les facteurs génétiques, facteurs environnementaux et les facteurs auto-immuns qui sont à l'origine du développement de cette dépigmentation par disparition des mélanocytes.

I.5.1. Facteurs génétiques

Il est fréquent qu'au sein d'une même famille plusieurs personnes soient atteintes de vitiligo. Plus de 15 gènes de susceptibilité ont été identifiés, cependant, être porteur de l'un d'entre eux ne signifie pas automatiquement le développement de la maladie. Les mécanismes de déclenchement ne sont pas encore élucidés, il y'a la possibilité d'anomalies mélanocytaires au cours du développement embryonnaire qui expliqueraient une fragilité plus importante de ces cellules chez les personnes atteintes de vitiligo. (GORZKOWSKI M., 2022)

Actuellement, la recherche se concentre sur les gènes porteurs d'anomalie et qui seraient plus à risque. (AAMRI H., 2018).

I.5.2. Facteurs environnementaux

Ces facteurs peuvent être de nature psychologique comme le stress, ou mécanique comme des blessures et des coups de soleil sévères. Ils auraient pour effet d'activer la prédisposition génétique du sujet à développer une réaction immunitaire contre ses propres mélanocytes, ce qui ferait apparaître les symptômes du vitiligo. (INGLIN C., 2019)

I.5.3. Facteurs auto-immuns

Les arguments en faveur d'une origine auto-immune du vitiligo sont nombreux et ils peuvent schématiquement être divisés en trois catégories :

- ✎ Auto-anticorps
- ✎ Immunité à médiation cellulaire.
- ✎ Théorie neurale

I.5.3.1. Auto-anticorps

Auto-anticorps signifie que les personnes atteintes de vitiligo produisent des anticorps anormaux qui s'attaquent à leurs propres cellules. Ils ciblent ici les mélanocytes et les détruisent. Une fois ces derniers détruits, la peau devient totalement blanche puisqu'il n'y a plus de production de pigment. (GORZKOWSKI M., 2022)

Les anticorps dirigés contre les cellules pigmentaires ont été détectés dans les sérums des patients atteints du vitiligo dans plusieurs études en utilisant une variété de techniques de

recherche, y compris l'immunoprécipitation, le western blot, et l'immunofluorescence. Les anticorps circulants et les dépôts d'anticorps ont été observés au niveau des membranes basales des zones dépigmentées chez les personnes atteintes de la maladie. (AAMRI H., 2018)

I.5.3.2. Immunité à médiation cellulaire.

Plusieurs études ont montré la présence, chez les patients atteints de vitiligo, de lymphocytes T cytotoxiques circulants dirigés spécifiquement contre des protéines mélanocytaires comme MelanA/MART1, gp¹⁰⁰ et tyrosinase. De plus, il a été démontré qu'à la périphérie des lésions de vitiligo, les lymphocytes T cytotoxiques étaient abondants et souvent situés au contact des mélanocytes. (BIBI K., 2008)

I.5.3.3. Théorie neurale

Des niveaux élevés de neuropeptide Y ont été démontrés dans la peau affectée par le vitiligo. Une diminution de la transpiration se produit dans certaines plaques de vitiligo segmentaire, ou il a été démontré que certains patients présentent de légers changements dégénératifs ou régénératifs dans les axones et les cellules de Schwann dans les zones dépigmentées. (REBAT M. et al., 2009)

I.6. Diagnostic

Le diagnostic du vitiligo est clinique, c'est-à-dire établi après un examen minutieux. Il n'existe aucun critère biologique spécifique que l'examen en lumière de Wood qui permet de mieux observer les taches de vitiligo mais surtout d'apprécier si le déficit mélanocytaire est partiel ou total. Parfois le recours à une biopsie cutanée est utile pour le différencier d'autres lésions associées à une anomalie de la coloration de la peau. Elle montre alors une absence de pigment mélanique et de mélanocytes dans la peau lésionnelle. Dans la plupart des cas, cette biopsie n'est pas nécessaire. (GAUTHIER Y., 2006).

I.7. Maladies accompagnatrices fréquentes

Le vitiligo est souvent associé à d'autres maladies auto-immunes (jusqu'à 25-30% des patients avec un vitiligo généralisé selon les séries), notamment thyroïdiennes. (CAVALIE M., 2014)

Il est associé également à la maladie d'Addison avec hyposécrétion des hormones glucocorticoïdes, l'anémie de Biermer, le lupus érythémateux, ou les maladies intestinales inflammatoires. Il peut également se rencontrer dans certains syndromes, dépigmentation des cils et/ou des sourcils (poliose), pelade, uvéoméningite (atteinte d'une des membranes

de l'œil et des méninges) aseptique et atteinte auditive, une candidose cutanée de la peau et des muqueuses avec ophtalmie sympathique (uvéïte autoimmune). (YVON G., 2006) chez les proposants et les sujets apparentés au premier degré, une augmentation significative de six maladies auto-immunes, dont le vitiligo, les maladies thyroïdiennes (principalement l'hypothyroïdie), l'anémie pernicieuse, la maladie d'Addison, le lupus érythémateux aigu disséminé, et des maladies inflammatoires du tube digestif. (PEARL E. 2005)

I.8. Traitements

Il n'existe pas de traitement qui permette de guérir le vitiligo. Les traitements actuels permettent toutefois de limiter la taille et le nombre de taches de dépigmentation.

I.8.1. Thérapies topiques

Des traitements topiques peuvent être prescrits pour repigmenter des petites taches de vitiligo, la repigmentation peut se faire par deux procédés : la photothérapie ou les traitements topiques (locaux).

I.8.1.1. Dermocorticoïdes

Le principal effet thérapeutique des corticostéroïdes dans le vitiligo est la modulation et l'inhibition de l'inflammation. Les crèmes à base de corticostéroïdes sont souvent prescrites pour être appliquées sur les taches récentes. Ces crèmes sont parfois prescrites à des enfants, avec une surveillance accrue. Des immunomodulateurs topiques, le pimecrolimus (Elidel® au Canada) et le tacrolimus (Prograf® au Canada, Protopic® en France) en crème, peuvent aussi être appliqués sur les taches. Ils ne semblent efficaces que sur les taches localisées sur le cou et le visage. (KUBELIS-LÓPEZ D E. et al., 2021)

I.8.1.2. Tacrolimus

Le Tacrolimus (Protopic®) préconisé dans le traitement de l'eczéma, est le traitement de référence. La molécule, de la famille des immunodépresseurs locaux, présente moins de risques d'atrophie de la peau que la cortisone « c'est un traitement long, au moins six mois pour juger de son efficacité, mais les résultats sont positifs dans environ 70 à 80 % des cas pour les atteintes du visage selon le professeur Thierry Passeron, dermatologue à l'hôpital St André à Bordeaux. (BENEDYCTE T C., 2022).

I.8.1.3. Camouflage par des cosmétiques

L'application de cosmétiques sur les régions dépigmentées, comme des fonds de teint spécialisés (Dermacolor®, ColorTration®, Kamaflage® au Canada, Couvrance® Unifiance®, Covermark® en France) ou des crèmes auto-bronzantes, permet de rendre moins apparente la décoloration de la peau, sans toutefois traiter la maladie.

I.8.2. Traitements systémiques

Les traitements systémiques sont :

I.8.2.1. Corticostéroïdes

Des formulations topiques contenant des corticostéroïdes peuvent contribuer à la dépigmentation de la peau via une inhibition de la réponse immunitaire, considérée comme composante majeure de la pathogénèse du vitiligo tel que discuté précédemment, le système immunitaire serait responsable, du moins en partie, de la perte des mélanocytes grâce à l'action des lymphocytes. L'utilisation des corticostéroïdes au niveau du visage et du cou semblent avoir une meilleure réponse que sur les autres parties du corps. Cependant, l'usage de ce type de traitement dans la région du visage est relativement limité dû à l'épaisseur réduite de la peau, ce qui en augmente le potentiel d'absorption. Les crèmes contenant des corticostéroïdes sont faciles à l'emploi, bien que des effets ont été rapportés tel qu'amincissement de la peau et l'apparition de stries cutanées. **(PLOUDRE P., 2016)**

I.8.2.2 Photothérapie

La photo-chimiothérapie par la méthode PUVA (combinaison de psoralène et de rayons UVA) consiste à combiner l'exposition de la peau aux rayons UVA à la prise (par voie orale, topique ou sous forme de bain) d'une substance appelée psoralène. Le psoralène, ingéré de 2 à 3 heures avant la photothérapie, rend la peau plus sensible aux rayons ultraviolets. Le psoralène par voie orale est généralement réservé aux formes étendues de vitiligo (plus de 20 % de la surface du corps touchée). **(PASSERON T., 2021)**. Le traitement demande une grande assiduité puisqu'il se déroule en plusieurs séances (de 100 à 300) à raison de 1 à 3 fois par semaine. Il faut attendre environ 2 ou 3 mois (ou 200 séances) pour obtenir un effet visible. La « PUVA-thérapie » est assez efficace, mais une re-pigmentation totale n'est obtenue que chez 15 % à 20 % des personnes traitées. Elle peut provoquer des démangeaisons, des douleurs et une brûlure semblable à un coup de soleil. À long terme, ce traitement augmente légèrement le risque de cancer de la peau. **(PEARL E. 2005)**

I.8.3. Traitements chirurgicaux

Dans certains cas, notamment lorsque les poils et les cheveux eux-mêmes sont dépigmentés, des greffes de peau peuvent être proposées. Ces greffes sont surtout adaptées aux personnes atteintes de vitiligo segmentaire, c'est-à-dire ne touchant qu'une partie de corps et n'évoluant plus. Il s'agit de greffes autologues, c'est-à-dire que les greffons sont prélevés sur le patient lui-même, dans des zones du corps qui ne sont pas atteintes par le vitiligo. Ce traitement n'est toutefois pas disponible partout. (ALOUA R, 2017).

I.9. Supplémentation en vitamines et antioxydants

Pour renforcer les défenses antioxydantes de l'organisme et prévenir l'apparition de lésions dues à l'oxydation, les chercheurs se sont interrogés sur l'utilité de différentes molécules antioxydantes en supplémentation dans l'alimentation, telles les vitamines E et C, les caroténoïdes. (PASTRE J., 2005)

I.9.1. Vitamine B12 et l'acide folique

La vitamine B12 ou cobalamine est une vitamine hydrosoluble qui intervient avec l'acide folique dans le métabolisme des bases puriques et pyrimidiques. La vitamine B12 et l'acide folique sont diminués dans le sérum des patients atteints de vitiligo. Mais le mécanisme initial principalement responsable de cette diminution n'a pas été évalué correctement (ALOUA R., 2017).

I.9.2. Acide para-amino-benzoïque

L'acide para-amino-benzoïque (PABA), parfois appelé vitamine B10 est une vitamine hydrosoluble. Pour ce qui est de la peau, l'acide para-amino-benzoïque possède une action anti actinique (se dit d'une substance qui s'oppose au rayonnement) par sa capacité d'absorption élevée des rayonnements UV, notamment entre 290 et 320 nm. (AAMRI H., 2018)

I.9.3. Antioxydants

Cette production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (superoxyde dismutases (SODs), catalase, glutathion peroxydases (GPx's), couple thiorédoxine/thiorédoxine réductase, hème oxygénase, peroxyrédoxine...), de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, acide urique, bilirubine, acide lipoïque, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine) qui maintiennent les métaux de transition. (PINCEMAILI., 2002)

I.10. Traitements psychiques

Bien que le vitiligo ne soit pas à une maladie grave, mais elle cause, chez certains patients, une dégradation psychosociale de degré variable. L'impact psychologique du vitiligo a été démontré dans plusieurs études menées dans le monde entier. Les patients atteints de vitiligo acceptent mal leur image corporelle, et souffrent d'une faible estime de soi. Ceux-ci pourraient être, pour certains, un handicap menant à l'isolement social (**BARJIJ I. (2015)**). Une psychothérapie peut aussi apporter un soulagement à certains patients. (**AMMOUR A., 2010**)

I.11. Traitements à base des plantes médicinales

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie sont essentielles pour conserver une trace écrite au sein des pharmacopées des médecines traditionnelles dont la transmission est basée sur la tradition orale. Dans chaque région du monde, les études ethno-pharmacologiques pourraient permettre le développement de médicaments à base de plantes locales. Au 11^{ème} siècle, Ibn El Bitar a décrit un traitement du vitiligo associant des expositions solaires répétées à la prise de graines d'une plante, *Visnaga daucoïde* Gaertn, qui pousse abondamment dans la vallée du Nil. Dès 1941, des recherches ont été effectuées en Egypte sur les vertus thérapeutiques des psoralènes vis-à-vis du vitiligo (**AAMRI H. 2018**).

Une étude récente faite en Iraq, publiée en juillet 2017, a démontré que le bergaptène qui possède des propriétés photo dynamisantes, activatrices de la mélanogenèse et le méthoxsalène qui sont des furanocoumarines largement distribuées dans la famille des Apiacées et utilisée comme traitement de certaines maladies de peau. Les plantes Apiacées ont la capacité de synthétiser et de stocker le bergaptène et le méthoxsalène qui jouent un rôle dans le traitement du vitiligo (**ALDULAIMI O., 2017**). Ces données concordent avec une autre étude faite en Maroc 2018 qui a confirmé la supériorité des apiacées dans le traitement du vitiligo. Dans cette étude, elles ont ciblé 8 plantes : *Ammi majus*, *Anacyclus pyrethrum*, *Ammi visnaga*, *Plumbago européen*, *Polypodium leucotomos*, *Curcuma longa*, *Rutagraveolens* L et *Nigella sativa*. (**AAMRI H., 2018**).

Chapitre II

Les métabolites secondaires

II.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes Synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes. Elles sont caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie). Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de produits pharmaceutiques. Ils appartiennent à des groupes chimiques variés : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (**FETTAH A. et LAOUZ H., 2019**)

II.2. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique (**AREF M. et HEDED M., 2015**)).

II.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des dérivés aromatiques hydroxylés non azotés dont les cycles aromatiques sont issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un poly acétate.

II.3.1. Définition et Structure chimique

Les composés phénoliques peuvent-être répartis selon, la complexité de leur squelette de base, le degré de modification de ce squelette et les liaisons possibles de ces composés avec d'autres molécules, en une dizaine de classes différentes. Ils ont pour structure de base, plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils vont de la simple structure avec un anneau aromatique à des substances polymériques hautement complexes tels que les tanins et les lignines. Les phénols sont des constituants, importants de certaines plantes médicinales et sont utilisés dans l'industrie alimentaire. (**SAIDI I., 2019**)

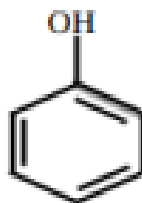


Fig. 04 : Structure du noyau phénol (HASSAINE A., 2020)

II.3.2. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques constituent un groupe important de métabolites secondaires. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façons variables suivant les végétaux, à partir de la voie de l'acide shikimique. (MACHEIX J. et al., 2005)

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

II.3.2.1. Voie de l'acide shikimique

La voie du shikimate est présente uniquement chez les bactéries, les champignons et les plantes. Les animaux ne possèdent pas cette voie métabolique, ceci ayant pour conséquence que les acides aminés aromatiques doivent faire partie intégrante de leur alimentation. La spécificité de ce métabolisme aux microorganismes et aux plantes supérieures a conduit à la recherche et à l'obtention de nouveaux antibiotiques et herbicides ayant pour cibles moléculaires des enzymes intervenant dans cette voie. (HOFFMANN L., 2003)

Le 3-déhydroshikimate, formé à partir de la condensation du phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate, est réduit en shikimate, puis la phosphorylation de ce dernier et sa condensation avec une autre molécule de phosphoénolpyruvate, conduit à la formation du chorismate. Le chorismate occupe une position-clé dans le métabolisme, en particulier dans la formation des acides aminés aromatiques. Les phénylpropane, tel l'acide cinnamique, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale. (KRIEF S., 2003)

II.3.2.2. Voie de l'acétate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de

l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase. **(RICHTER G., 1993)**

II.3.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergiques, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, antithrombotique, cardioprotectrice et vasodilatatoire. Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène. **(BELYAGOUBI N. BENHAMMOU N., 2012)** Les polyphénols jouent également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries **(ZERGUI F Z., 2016)**.

II.4. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés sont formés de deux catégories : la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par monohydroxylation et/ou poly hydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchique. La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide p-coumarique et à l'acide caféique **(GHNIMI W., 2015)**.

II.4.1. Flavonoïdes Définition et structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents et distribués de manière générale, dans toutes les plantes vasculaires. Leur squelette chimique commun possède 15 atomes de carbones, constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle pyranique central C. Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et 5 B, et la nature de C. Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les Flavanones, et les anthocyanes. Ces molécules se

rencontrent à la fois sous forme libre, mais sont très souvent liés avec des sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre. Ils sont localisés dans divers organes : fleurs, fruits, feuilles, tiges et racine. Les aglycones sont plutôt présents sous forme de cire dans les feuilles, les écorces et les bourgeons. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une caractéristique des flavonoïdes (SAFFIDINE K., 2015)

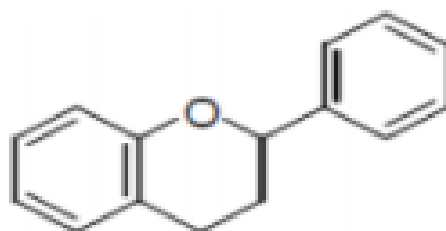


Fig. 05 : Structure de base des flavonoïdes (HASSAINE A., 2020)

II.4.1.1. Classification des flavonoïdes

Parmi ces flavonoïdes se trouvent :

A. Flavones et flavanols

Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4' ou di-substitué en C3' et C4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃) (AKROUM S., 2011).

B. Flavanones et hydroflavonols

Les Flavanones et les hydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavanols. Les hydroflavonols se distinguent des Flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé rassemblant les flavones et flavanols (ZAGANE A., 2011).

II.4.2. Quinones

Les quinones résultent de l'oxydation de dérivés aromatiques caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diéniq (para quinones) ou par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-iéniq (orthoquinones). La dione peut être conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé :

naphtalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones), naphtodianthrène (naphtodianthrone) (KRIEF S., 2004).

II.4.3. Lignanes, Définition et structures chimique

Le terme lignanes à l'origine présenté par Haworth en 1936. Les lignanes sont les dimères des unités de phénylpropane (C₆ C₄). La distribution botanique des lignanes est large. Plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus et dans toutes les parties des plantes (les racines, les feuilles, les fruits est les graines). Au niveau des végétaux, ils forment une barrière mécanique, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi et participent à la résistance aux microorganismes et aux herbivores. De plus, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (ALLAB L., 2019)

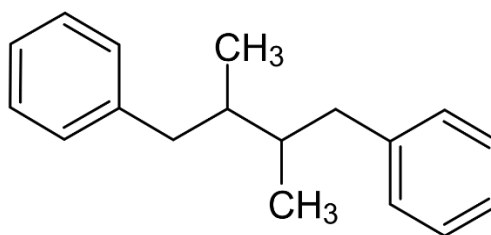


Fig. 06 : Structure de base des lignanes (GABASTON J., 2018)

II.4.4. Stilbènes

Composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Le plus connu d'entre eux est le resvératrol (Annexe 6) qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (REZAIRE A., 2012). Les stilbènes forment la famille des stilbénoides. Ils sont présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures. L'unité de base des stilbènes est le (E)-3,5,4'-hydroxystilbène ou (E)-resvératrol. Les dérivés du resvératrol varient en fonction du nombre de groupements hydroxyle, des substitutions par les sucres, les groupements méthoxyles, par la conformation (Z) ou (E) et par le degré d'oligomérisation, et (ARRAKI K., 2014).

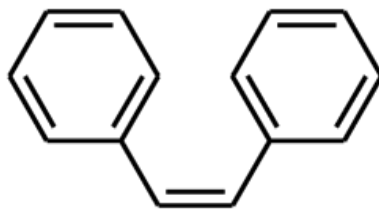


Fig. 07 : Représentation topologique du stilbène (HASSAINE A., 2020)

II.4.5. Saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène . (MUANDA F N., 2010)

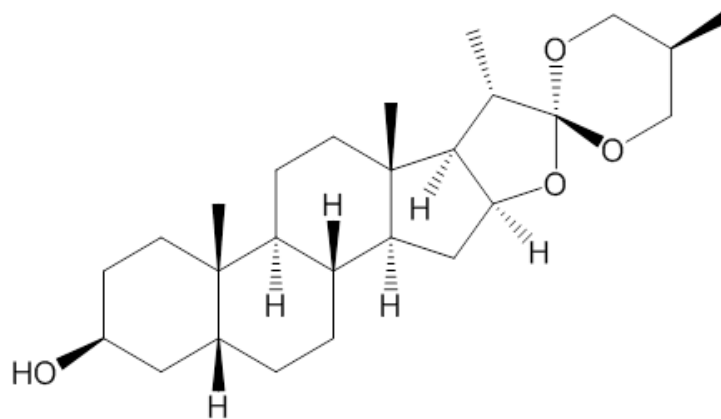


Fig. 08 : Structure de base des Saponines (DO T., 2016)

II.4.6. Définition Des Tanins

Les tanins représentent un des quatre groupes de métabolites secondaires des plantes supérieures avec les saponines, les huiles essentielles et les alcaloïdes. A la différence des métabolites primaires intervenant directement dans la nutrition et la croissance, les métabolites secondaires participent à la vie de relation de la plante avec son environnement. La synthèse des tanins est ainsi un des mécanismes de défense contre les agressions des phytopathogènes (bactéries, champignons, virus) et des prédateurs (insectes, mammifères herbivores). (MUELLE-HARVEY I al., 2018) Les tanins sont des substances naturelles

polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, à saveur astringente, ayant en commun la propriété de précipiter les protéines, en s'y liant). Ils forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés.

(RIRA M., 2020)

II.4.6.2. Classification

Les deux types de tanins sont :

A. Tanins condensés (non hydrolysables)

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3. Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes. La variation structurale des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter-flavonoïdes. Les unités flavan-3-ols les plus courantes trouvées dans les tanins condensés comprennent la catéchine, l'épicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine (NAUMANANN H D. et al., 2017)

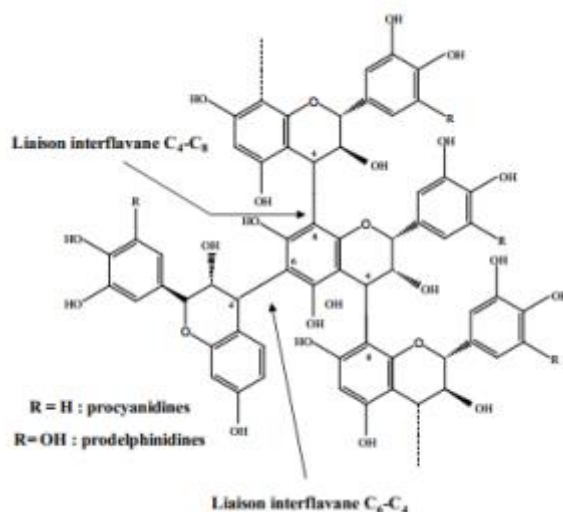


Fig. 09 : Structure chimique des tanins condensés (RAHOU H., 2017)

B. Tanins pyrogalliques (ou hydrolysables)

Sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques. Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases

en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tannins galliques (Gallo tannins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tannins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique. (SAFER S., 2018)

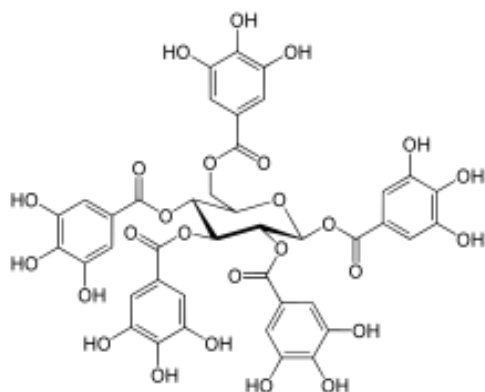


Fig. 10 : Structure de tanin hydrolysable (STRACK D., 1997)

II.4.7. Coumarines

Le nom de coumarine vient de « coumarou », nom vernaculaire de la « fève Tonka » qui est le fruit d'un arbre de la Guyane (*Dipteryx odorata* Willd, syn. *Coumarouna odorata* Aubl., Fabaceae). De ce fruit fût isolée en 1820 pour la première fois une substance cristalline odorante appelée coumarine. Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base benzo-2-pyrone (C6-C3), que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxyZ-cinnamiques. (OTMANI K., et FETAYAH A. 2020)

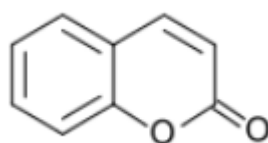


Fig. 11 : Structure des coumarines (RAHOU H., 2017)

II.5. Terpenoïdes, Définition et structure chimique

Les terpènes sont le résultat de l'association d'unités hydrocarbonées composées de cinq carbones (C5) et sont classés en fonction du nombre d'unités formant la molécule finale. Ainsi, la déphosphorylation d'un isopentényl-diphosphate (IPP) conduira à l'isoprène qui appartient à la sous-classe des hémiterpènes. La liaison entre deux unités C5 donne du géranyl diphosphate (GPP) à l'origine de la sous-classe des monoterpènes. La condensation de trois unités C5 conduit à la formation de farnésyl diphosphate (FPP), substrat de la

formation des sesquiterpènes et enfin la polymérisation de quatre unités C5 est à l'origine des diterpènes. Les substrats des triterpènes et tétraterpènes sont respectivement formés par la condensation de deux FPP et de deux géranylgeranyl diphosphate (GGPP). (MARTINELLI L M B., 2021)

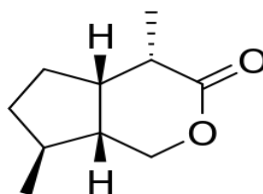


Fig. 12 : Structure chimique d'un Terpenoïdes (GABASTON J., 2018)

II.6. Alcaloïdes, Définition et structure chimique

Le terme alcaloïde ou « alkaly-like » (al kaly= la soude, like= qui a l'apparence) a été proposé pour la première fois par le pharmacien Meissner, 1818 comme étant des substances naturelles alcalines. Ce n'est que récemment, que Pelletier les a présentés comme des molécules organiques de structures cycliques contenant un atome d'azote intracyclique «N». Les alcaloïdes sont formés principalement à partir de divers acides aminés, la lysine, la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ces acides sont le point de départ de la synthèse de plusieurs molécules alcaloïdique. Les alcaloïdes jouent un rôle très important dans le végétal comme l'odeur, la couleur le goût et surtout la protection et la défense contre les agressions externes, ils sont aussi considérés comme une forme de réserve d'azote. (BERRAHOU née LADGHAM-CHICOUCHE K. BOUSSAFI A. 2018)

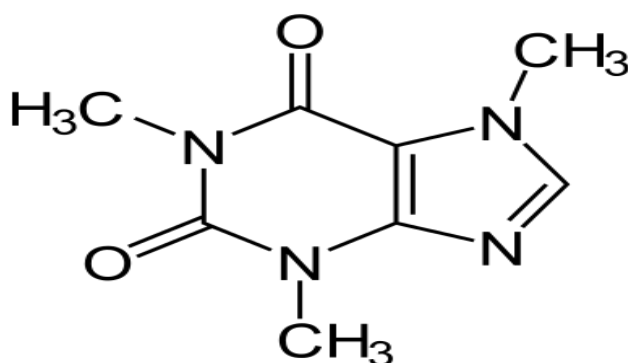


Fig. 13 : Représentation topologique des alcaloïdes (HASSAINE A., 2020)

II.6.2. Classification des alcaloïdes

A. Vrais alcaloïdes

Ce sont des substances d'origine naturelle, à distribution limitée et aux structures complexes. L'Azote (N) est inclus dans un hétérocycle. Ils existent dans la plante sous forme de sels et ayant pour origine biosynthétique un acide aminé. Ils sont doués d'activité pharmacologique significative (ELKOLLI M., 2018).

B. Pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés) (DJAMA S. et KAROUR T., 2020)

C. Proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des composés de structures simples dans lesquels l'atome d'azote dérivé d'un acide aminé ne fait pas partie de l'hétérocycle. Ces types d'alcaloïdes comprennent des composés dérivés de la L-tyrosine et du L-tryptophane, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont solubles dans l'eau (DJAMA S. et KAROUR T. , 2020)

Chapitre III

Les antioxydants

III.1. Stress oxydant

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule. Dans les conditions physiologiques, l'oxygène produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS, pour réactif Oxygène Spécifs) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire, c'est notamment le cas au niveau des mitochondries d'une cellule. De nombreux ROS sont des radicaux libres, possédant des propriétés oxydantes qui les amènent à réagir avec leurs environnements chimiques, incluant une série de substrats biologiques d'importance (lipides, protéines, ADN (acide désoxyribonucléique), sucres...). Au niveau moléculaire, ces ROS peuvent également jouer le rôle de messagers secondaires en activant différents facteurs ou indirectement des gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies. **(DESMIER T., 2016)**

III.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. La molécule d'oxygène (ou dioxygène, O₂) présente la particularité d'avoir la structure d'un biradical libre, en raison de ses deux électrons célibataires situés sur les deux orbitales de plus grande énergie. Ne possédant qu'un seul électron sur ses orbitales, l'oxyde d'azote (NO) est un radical peu réactif, synthétisé à partir d'un atome d'azote et d'une molécule d'oxygène. Dans les phénomènes de stress oxydant prenant place dans les milieux biologiques, les radicaux libres qui interviennent, partagent pour caractéristique celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (EOR ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS). **(REZAIRE A., 2012).**

III.3. Généralités sur les antioxydants

Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E, β -carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique) **(SANOU P., 2015)**. Selon **(LAROUCHE M .et al. 2003)**, un antioxydant est «toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ». En tant qu'additif alimentaire, un antioxydant est

une molécule qui protège les aliments contre les réactions d'oxydations qui accélèrent leur vieillissement. Ceci est dû essentiellement à l'oxygène de l'air, la lumière, les traces de métaux et éventuellement certaines enzymes. (SANOU P., 2015)

III.4.Type des antioxydants

III.4.1. Antioxydants non enzymatiques

A. Vitamine C

La vitamine C ou acide L'ascorbique est une molécule soluble dans l'eau. Elle est synthétisée par les plantes et la plupart des animaux, excepté chez certains mammifères tels que l'homme. C'est une molécule antioxydant capable de réagir directement avec tous les ROS réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de Fe³⁺ en Fe²⁺ favorisant ainsi la réaction de Fenton et a donc de manière indirecte une action pro-oxydante. (BEGUEL J P., 2012).

B. Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol) réagit avec les radicaux d'origine lipidique pour empêcher le processus de peroxydation lipidique de se développer. Si le flux de radicaux libres formé est trop important, le radical tocophéryl peut toutefois devenir peroxydant et contribuer ainsi à augmenter la peroxydation lipidique et jouer un rôle dans le développement de l'athérosclérose. (PINCEMAIL J. et al., 2002).

C. Glutathion

Le GSH est un tripeptide (L γ glutamy-l-cystéinyl-glycine) impliqué dans de nombreux processus au niveau intracellulaire. Son rôle dans la détoxification de xénobiotique et dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation a été bien établi. Dans des conditions physiologiques, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%), lors d'un stress oxydant le GSH est oxydé avec la formation de pont disulfure, GSSG :(Glutathion oxydé), et/ou de pont disulfure mixte, GSSR (R étant fixé à un autre thiol radicalaire). Le glutathion agit également comme co-substrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec

d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vitamine C ou la vitamine E (LARABA M. et al., 2016)

D. Polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. (BOIZOT N. et CHAPENTIER J P., 2020)

E. Acide lipoïque

C'est un antioxydant puissant qui peut régénérer d'autres antioxydants tels que les vitamines C et E (David G W, 2015). Il est capable de piéger le HO• (Radical hydroxyle), ROO• (Radical peroxy), HOCl• (Acide hypochlorique) et $^1O^2$, (PACKER L al., 2001) de chélate les métaux lourds, réduit la glycation et interviendrait dans la réparation de l'ADN. Il existe sous forme oxydée et sous forme réduite. Produit en petite quantité par le foie, il se trouve également dans certains aliments (la levure, la viande de bœuf, l'épinard, le brocoli...). (MEDART J., 2009)

F. β carotène

Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés antioxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles HO• et peroxyles ROO• et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet $^1O^2$. En outre le β -carotène, tout comme l' α -carotène et β -cryptoxanthine, sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A(ou rétinol) chez l'homme, de sorte que le β carotène est une provitamine A (BEAUXDEUX J L. GENEVIEVE D., 2011).

G. Coenzyme Q10

La coenzyme Q10 appelée ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. (HALEN G. et al., 2007). Elle est hautement soluble dans les lipides, et se retrouve dans la

quasi-totalité de la membrane cellulaire, ainsi que les lipoprotéines. (STARGROVE M B. et al., 2008). La CoQ10 synthétisée par l'organisme à partir du mévalonate qui est également impliqué dans la formation du cholestérol. (ROBERFROID M B. et al., 2008). Cet antioxydant se trouve aussi dans des aliments comme les noix, le foie, les sardines, des grains complets et certains légumes. L'action biochimique primaire de la CoQ10 est une coenzyme pour de nombreuses enzymes dans la chaîne de transport d'électrons, une série d'oxydoréduction de réaction impliquée dans la respiration cellulaire, où la présence de la coenzyme Q dans la membrane mitochondriale interne est nécessaire pour la conversion de l'énergie provenant des glucides et des lipides dans la synthèse d'ATP. (STARGROVE M B et al., 2008). La CoQ10 contribue également à prolonger l'effet antioxydant de la vitamine E. tous les processus physiologiques qui exigent une dépense énergétique requièrent la CoQ10. (CANAVY B. et al., 2014)

H. Caroténoïdes

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles. De façon formelle, tous les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire (C₄₀H₅₆) avec de nombreuses doubles liaisons. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le β-carotène, également appelé provitamine A car, après hydrolyse hépatique, il donne naissance à deux molécules de vitamine A. (HALENG ET AL., 2007) Le β-carotène capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène. (GOUDABLE ET FAVIER, 1997)

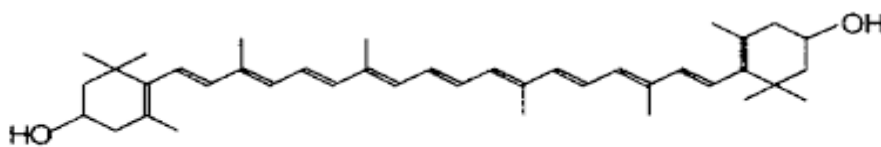


Fig. 14 : Formule développée et modèle du β-carotène (AYAS N. et MESSAOUDI K., 2017)

I. Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires. (ALGECIRAS -SCHIMNICH A. et al., 2007) La bilirubine est oxydée par

certaines espèces recyclée par la biliverdine réductase. **(HALLIWELL B. et GUTTERIDGE J M., 2007)**

III.4.2. Antioxydants enzymatiques

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. Les antioxydants sont classés en deux systèmes de défense différents en fonction de leur origine, le système de défense endogène et le système de défense exogène. **(BENCHALAL K. et HANI G., 2012)**

A. Superoxyde dismutase (SOD)

Les superoxydes dismutases ou SOD sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant diffusible et dangereux à distance mais il peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases. Chez l'homme, trois isoformes de l'enzyme SOD qui diffèrent par leur structure et leur localisation cellulaire ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La Cu/Zn-SOD ou SOD1 cytosolique, et la ECSOD ou SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, lorsque la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse. **(LARABA M. et al., 2016)**

B. Catalase

Les catalases sont des enzymes héminiques localisés dans les érythrocytes et les tissus à métabolisme élevé comme le foie, les reins et le cœur, mais ils existent en fortes concentrations dans les peroxysomes. Elles agissent en synergie avec la SOD puisque leur rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. **(BENCHALAL K. et HANI G., 2012)**

C. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx est une scléroprotéine formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium, elle permet d'éliminer les radicaux libres qui peuvent oxyder la molécule d'ADN et les peroxydes lipidiques. **(BOUKENI G. et TOUM T., 2020)**

III.5. Mécanisme d'action des antioxydants

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents.

A. Antioxydants primaires ou piègeurs des radicaux libres

Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire, ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. (BOUDEHANE E. et al., 2019) Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxydés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO·), en comparaison avec les autres radicaux comme le (RO·) et la faible concentration du piègeur du radical libre dans l'aliment. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (HUANG et al., 2005).

B. Antioxydants secondaires ou préventifs

Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines) ou enfin de séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique. (ROLLAND Y., 2004)

III.6. L'identification de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits végétaux traduit leur aptitude à piéger les radicaux libres de l'organisme. Trois méthodes peuvent être utilisées pour évaluer L'activité antioxydante des extraits.

III.6.1. Le test de piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances antioxydantes, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. (MEDJILI S. et ZAGHDANE W., 2018) En outre, le DPPH n'est soluble que dans des solvants organiques (éthanol, méthanol), ce qui rend la mesure de la CA d'antioxydants hydrophiles difficiles. (TOLBA I., 2016) L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait historiquement par le changement de couleur allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite). (DESMIER T., 2016)

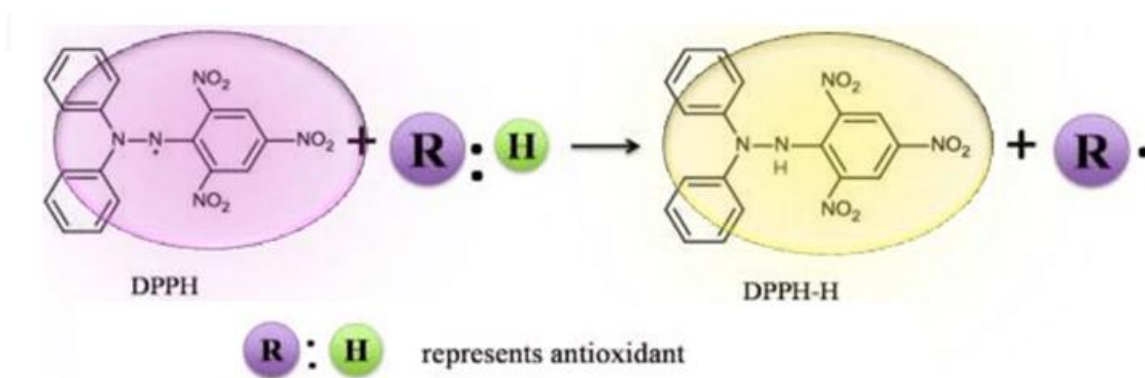


Fig. 29 : Le radical DPPH et sa forme réduite (GOUDJIL M B., 2016)

Chapitre IV

Visnaga Daucoides Gaertn

IV.1. Matériel végétal

La plante *Visnaga daucoides* Gaertn a été récupérée auprès d'un herboriste de la wilaya de Mostaganem en avril 2022 et identifié par la botaniste Mme SEKKEL F enseignante au département de Biologie, université Abd Elhamid Ibn Badis de Mostaganem.

IV.1.1. Description botanique

Khella, le nom arabe de la plante, est utilisé dans tout le Moyen-Orient et souvent aussi en Europe (VOGEL A., 2013). Le khella a été utilisé comme remède dans l'ancienne Egypte comme l'indique le papyrus d'Eber. Elle est communément connue sous le nom « Bachnikha » ou « Noukha » au Maroc, appelé aussi Khella ou bien « Noukha » en Algérie, Sowak ANabi » en arabe ; « Tabellaout » en Berbère. (KERBOUCHE- HAMMOUM L. 2016)

L'herbe annuelle ou bisannuelle de la famille des Apiacées à fleurs blanches en ombelles pousse au printemps sous la forme d'une tige dressée, ronde et cannelée, atteignant de 80 à 120 cm de hauteur. Les feuilles gris vert ont environ 20 cm de long ; elles sont disposées en chevrons et pennées. Le haut de la tige est ramifié et légèrement recourbé. Les grandes ombelles terminales réunissent parfois jusqu'à une centaine de pédicelles portant à leur tour de petites ombelles à fleurs blanches. A maturité, les pédicelles épais et rigides sont rétractés et forment comme un nid. Leur goût est agréable et après leur lignification, on les utilise comme cure-dents. Les petits fruits lisses et ovales tombent quand ils sont secs ; à la déhiscence, ils donnent deux graines d'un brun grisâtre, d'environ 2 mm de long (VOGEL A., 2013). Les pédoncules des ombelles, très nombreux, jaunissent et se tassent les uns contre les autres ; Elle a une légère odeur et un goût très amer. La plante est connue par ces vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle ; De nos jours, elle est utilisée dans la médecine moderne pour traiter de nombreuses maladies tels que les coliques néphrétique, l'insuffisance coronarienne, le vitiligo vue son pouvoir antioxydant, antifongique et antibactérien. (DJELLAB N H. et al., 2020)



Fig. 15 : *Visnaga daucooides* Gaertn fraiche au stade de floraison

IV.1.2. Répartition géographique

Elle pousse spontanément autour du bassin méditerranéen, jusqu'au Proche Orient, sur des terres en friche et des terres argileuses. Elle est largement distribuée en Afrique du Nord, observée dans la vallée du Nil en Égypte, au Maroc, à l'Ouest Algérien, en Tunisie, en Europe, dans les îles de l'Atlantique, en Asie : les pays du Moyen Orient, ainsi qu'en Inde, au Pakistan et en Chine. Bien installée dans tout le pourtour méditerranéen, elle s'est ensuite naturalisée en Europe (**KERBOUCHE-HAMMOUM L. 2016**); Il s'est acclimaté en Australie et en Amérique du Sud : en Argentine, au Chili, au Mexique ainsi que dans le sud des États-Unis. Cette plante se caractérise par son hygrochassie, c'est-à-dire que les pédicelles des ombelles s'étalent en milieu humide et se recroquevillent en cas de sécheresse. Les ombellifères de nos contrées sont xérochassiques, c'est-à-dire qu'ils s'ouvrent en séchant et se referment à l'humidité. La floraison a lieu en juillet Originaires d'Afrique du Nord, Le Khella est une plante vivace, elle pousse couramment aux abords des oueds et des chemins autres après la floraison. (**KERBOUCHE-HAMMOUM L. 2016**), elle est considérée comme une plante commerciale. (**HERIZI L. et DAHMOUNE Y., 2021**)

IV.1.3. Classification botanique

Visnaga daucooides Gaertn est une espèce de plantes à fleurs herbacée, annuelle ou bisannuelle, de la famille des *Apiaceae* et du genre *Visnaga*.

Tableau 01 : Classification classique de la plante *Visnaga daucooides Gaertn* (BENKHALDI D., 2017)

| | |
|--------------------------|---------------------------|
| Règne | Plantae |
| Sous-règne | Tracheobionta |
| Phylum (Division) | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous-Classe | Rosidae |
| Famille | Apiaceae |
| Genre | Visnaga |
| Espèce | Visnaga daucooides |

IV.1.4. Composition chimique

Les études phytochimiques de *Visnaga daucooides Gaertn* ont révélé sa richesse en différentes composés qui se résument dans le tableau suivant :

Tableau 02: différents composants de *Visnaga daucooides Gaertn* (KERBOUCHE-HAMMOUM L., 2016)

| Familles | Composants |
|-------------------------|--|
| Furanochromones | γ -pyrones 4%, la khelline (0,3-1,2%), la visnagine (0,05 à 0,30%), khellinol, ammiol, khellol et khellinin visammiol, khellinone, snaginone (HASHIM S et al., 2014). |
| Furanocomarines | xanthotoxine et d'amoidine |
| Pyranocoumarines | 0,2-0,5% comprenant : la visnadine, lasamidine et dihydrosamidine (HASHIM S et al., 2014) |
| Flavonoïdes | comprenant : la quercétine et l'isorhamnetine et leurs trisulfates ainsi que le kaempferol |
| Volatiles | Les plus abondant: linalool and aliphatic esters |
| Protéines | (fruits mûrs sèches) 12-16% |

IV.1.5. Utilisation traditionnelle et thérapeutique de la plante

De nos jours, il est utilisé dans la médecine moderne pour traiter de nombreuses maladies tels que les coliques néphrétiques et l'insuffisance coronarienne, en plus elle connue par son potentiel antioxydant, antifongique et antibactérien, avec un effet larvicide sur les larves de moustiques. Des études évaluées par des pairs montrent que ces activités pharmacologiques sont dues à ses précieux constituants chimiques qui comprennent principalement l'huile essentielle, les composés polyphénoliques dont les flavonoïdes, ainsi que les γ -pyrones, représentées principalement par la khelline et la visnagine. Son huile essentielle aurait des effets antiviraux, antibactériens et larvicides, tandis que sa teneur en flavonoïdes est responsable de son activité antioxydante. Sa teneur en γ -pyrones a un effet puissant pour faciliter le passage des calculs rénaux et soulager les coliques néphrétiques, en plus d'avoir un effet relaxant sur les muscles lisses dont celui des artères coronaires, ces vertus thérapeutiques constituent un support scientifique pour être utilisé dans l'industrie pharmaceutique. (DJELLAB N H. et al., 2020)

Partie expérimentale

Chapitre V

Matériels et Méthodes

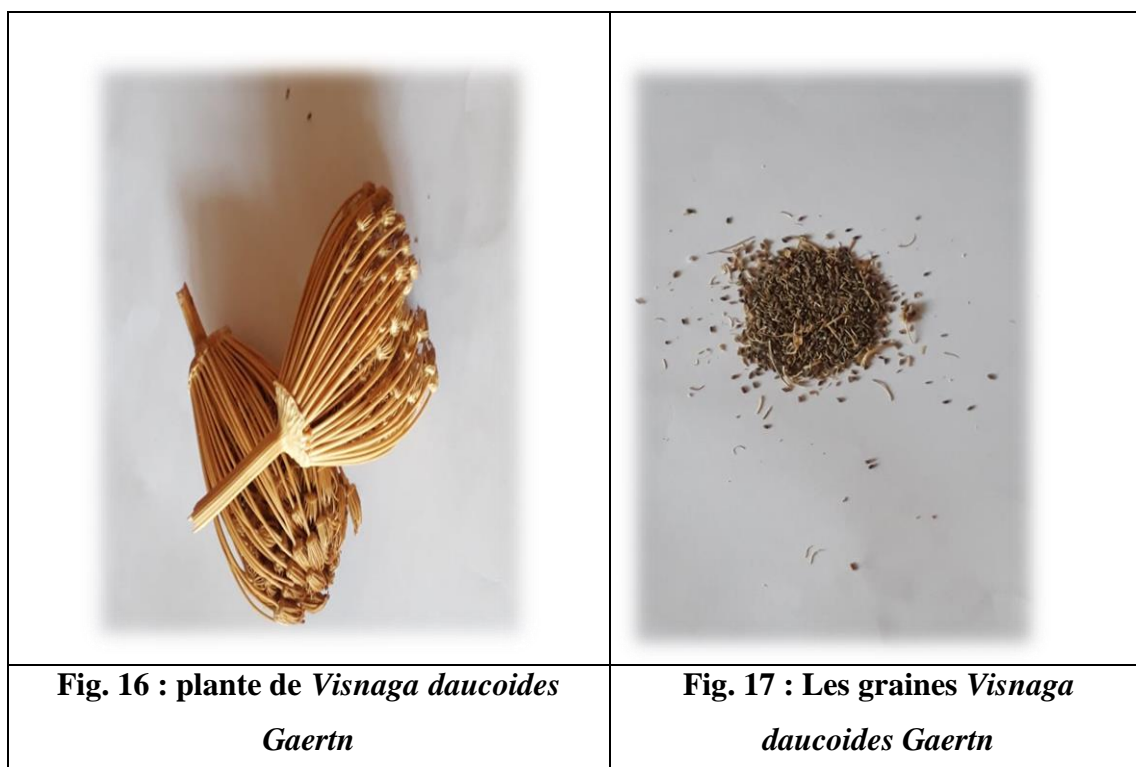
V. 2. Méthodes

Nos expérimentations ont été réalisées au niveau des deux laboratoires de biochimie N°03, et de microbiologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem.

V.2. 1. Préparation des extraits végétaux

V.2.1.1. Séchage

Après avoir été bien nettoyés et débarrassés des particules et de la poussière, les graines de notre plante étudiée desséchées dans une étuve à une température de 40°C jusqu'à obtenir un poids constant.



V.2.1.2. Broyage

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique permettant d'obtenir des poudres très fines. Plus le diamètre de la poudre est petit, plus la surface d'échange entre celle-ci et le solvant d'extraction est grande, donc le rendement d'extraction est meilleur.



Fig. 18 : Plante de *Visnaga daucoides Gaertn* broyée (Photos prise par BENKORICH & BELHANAFI, 2022)

V.2.2. Appareils et réactifs utilisés

1. Appareils utilisés

Evaporateur rotatif, bain marie, balance, vortex, agitateur magnétique, étuve, micropipette.

2. Réactifs utilisés

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques tels que le méthanol, chloroforme et l'eau distillée.

Parmi les réactifs utilisés : Acide sulfurique (H_2SO_4), chlorure ferrique ($FeCl_3$), acide chlorhydrique (HCl), hydroxyde de sodium ($NaOH$), tournures de magnésium (Mg), éther de pétrole, anhydride acétique ($C_4H_6O_3$), réactif de Mayer, éthanol, hydroxyde de potassium KOH , méthanol, réactif de Fehling.

V.3. Méthodes d'extraction de *Visnaga daucoides Gaertn*

V.3. 1. Décoction

L'extrait aqueux brut de *Visnaga daucoides Gaertn* est obtenu par la décoction 50g de poudre été mélangée avec 500 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer et bouilli pendant 30 minutes. Ensuite on le refroidit puis le filtre à l'aide d'un papier filtre.

V.3.2. Macération

Les graines séchées ont été broyées finement le jour même de l'extraction. 25 g de la matière végétale a été mise en contact avec 100 ml de deux solvants différents : le chloroforme et le méthanol/eau à 70/ 30 (v/v). Les extraits obtenus ont été filtrés (papier filtre wattman N° 3).



Fig. 19 : La filtration à l'aide du papier filtre.

V.4. Calcul du rendement

Le rendement d'extrait méthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée (OWEN et JOHNS, 1999). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_s}{P_p} \times 100$$

Où :

P_s : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

P_p : Poids de la poudre en gramme (g).

V.5. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique est une étude qui permet d'avoir et d'identifier les différents constituants de la plante. Il est basé sur des tests chimiques qui indique la présence ou non de ces constituants tel que : Les flavonoïdes, Les alcaloïdes, Les tanins, Les saponines, Les quinones libres, Phénols, Stérol et Polyterpènes.

V.5. 1. Identification des Quinones libres

On ajoute quelques gouttes de NaOH (1/10) à l'extrait d'éther de pétrole. La présence de quinones libres est confirmée par un virage de la couleur de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet. (NAJJAA H. et al., 2011)

V.5. 2. Identification des flavonoïdes

Dix gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0.5 ml de l'extrait. La coloration rose-rouge ou jaune, après trois minutes d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes. (HADDOUCHI F. et al., 2016)

V.5.3. Identification des Tanins

Huit gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique à 1 % sont ajoutées à 1 ml de l'extrait. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques. (HADDOUCHI F. et al., 2016)

V.5. 4. Identification des saponines

Test de la mousse : l'extrait est repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable, persistant pendant 15min, indique la présence des saponines. (YVES-ALAIN B. et al., 2007)

V.5. 5. Identification des Tanins vrais

Un aliquote d'extrait est repris dans 2ml d'eau distillée, puis on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré le tout est chauffé au bain marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif. (YVES-ALAIN B. et al., 2007)

V.5.6. Identification des Alcaloïdes

Test fondé sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds. Test de Mayer : L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50 %. La formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes. (DAHOU et al., 2003).

V.5.7. Identification des Stérols et Polyterpènes

Ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive. (KOFFI N. et al., 2009)

V.5.8. Identification des phénols

2ml de l'éthanol est ajouté à 2 ml de l'extrait, L'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ permet l'apparition d'une coloration qui indique la présence des phénols. (IQBALHUSSAIN. et al., 2011)

V.5.9. Identification des flavonoïdes glycosides

1ml d'hydroxyde de potassium KOH à 1% est ajouté à 2ml de l'extrait dilué dans le méthanol. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides. (IQBALHUSSAIN. et al., 2011).

V.5.10. Identification des Sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de Fehling. 5 ml d'extrait sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive. (YVES-ALAIN, B., 2007)

V.6. Analyse quantitative

L'étude quantitative est portée sur le dosage des composées les plus fortement présentes telles que les tanins et les flavonoïdes.

V.6.1. Dosage des flavonoïdes

Ce dosage est réalisé selon la méthode de (RIBEREAU-GAYON, 1968).

Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Ali-RACHED F. et al, 2017) Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (RIBEREAU-GAYON, 1968)

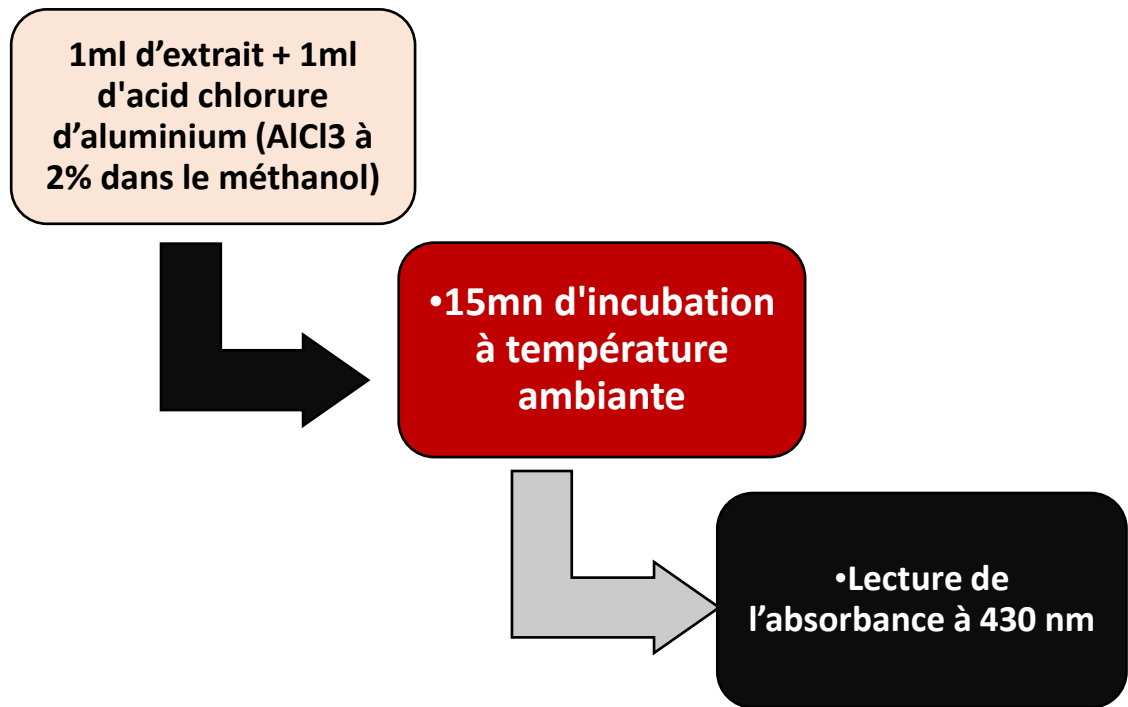


Fig. 20 : schéma du dosage des flavonoïdes selon la méthode de (RIBEREAU-GAYON, 1968)

IV.6.2. Dosages des tannins

➤ Principe

Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline.

(ALI-RACHEDI F. et al, 2017).

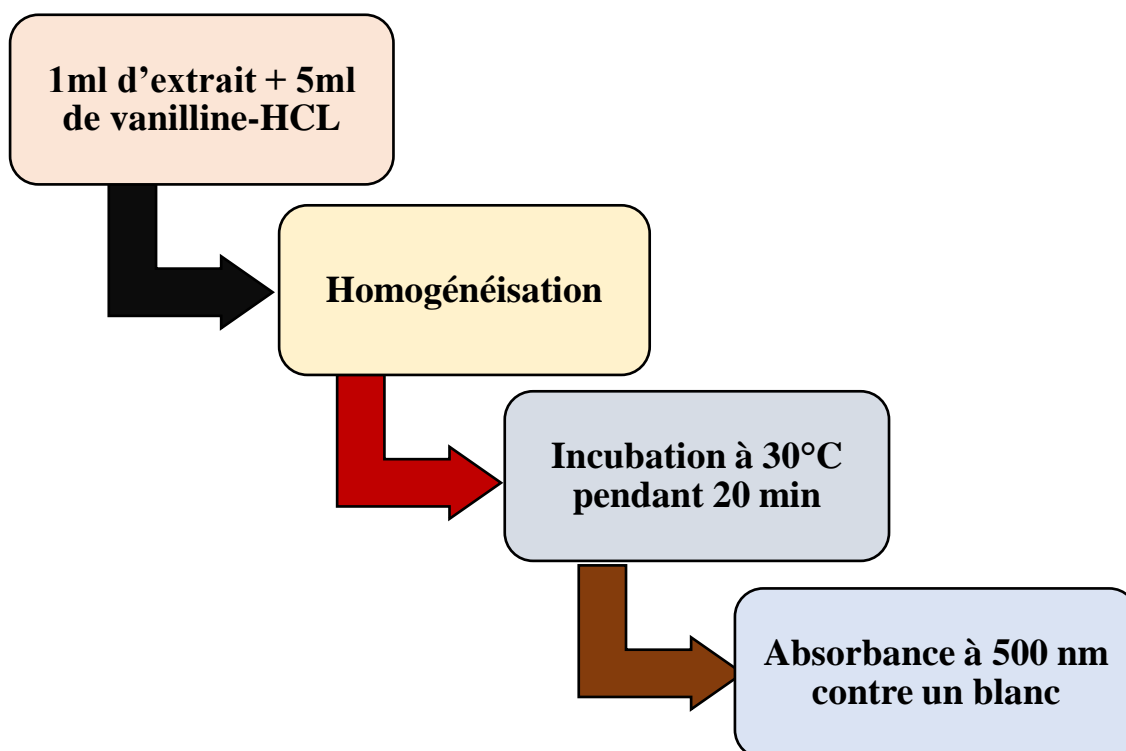


Fig. 21 : schéma du dosage des tanins selon la méthode de (HEIMLER et al., 2006)

IV.6.3. Evaluation, in vitro, de l'activité antioxydante

Au cours de nos travaux, nous avons opté pour le test du piégeage des radicaux DPPH.

➤ **Test du piégeage des radicaux DPPH**

L'activité antioxydante d'extrait végétal traduit leur aptitude à piéger les radicaux libres de l'organisme.

➤ **Mode opératoire**

Une solution éthanolique de 0,005 mM du DPPH est mélangée avec différentes concentrations de notre extrait (0,9/ 1,8/ 3,6/ 7,2 mg/ml). 1mL de la solution Méthanolique du DPPH est ajouté à 1mL de chaque solution Méthanolique d'extraits, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Un témoin négatif composé d'1mL de la solution Méthanolique de DPPH et 1 ml de Méthanol. Le blanc renferme uniquement 2mL de Méthanol. La lecture est effectuée à 517 nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif aux mêmes concentrations d'extrait des graines de *visnaga daucoïde Gaertn.* (**KHIAL F., 2017 avec quelque modification**)

- Les résultats ont été exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où inhibition des radicaux libres, en pourcentage, en utilisant la formule suivante :

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échant})}{\text{Abs contrôle}} \times 100.$$

Abs contrôle : absorbance du contrôle négatif.

Abs échant : absorbance de l'échantillon.

IV.7. Analyse statistique

Toutes les mesures ont été données en triplicata. Les résultats sont présentés en moyennes \pm écarts type. Les tests de corrélations entre variables ont été effectués à l'aide du Microsoft Excel 200. Le coefficient de corrélation utilisé est celui de Pearson (r), également appelé coefficient de corrélation linéaire.

Chapitre V I

Résultats et Discussions

V I. Résultats de l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante

V I.1. Détermination du rendement d'extraction

D'après ces résultats obtenus, nous pouvons déduire que :

Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction avec du chloroforme (16,96%) suivie par la méthode d'extraction par décoction avec (15,6%) et (13,6%) pour l'extrait méthanol-eau ; Donc, le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon. (LEHOUT R. et LAIB M. 2015) ; ainsi selon (KHODDAMI A .et al., 2013) l'utilisation de plantes sous forme de poudre rend l'extraction plus efficace, car l'échantillon devient plus homogène, la surface de contact avec le solvant devient plus grande, la pénétration à l'intérieur des cellules est plus facile. Dans notre cas, peut-être les substances solubles dans le chloroforme sont présentes en quantité importante et sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction avec le chloroforme.

Tableau 03 : Rendements des trois extraits des graines de *Visnaga daucoides Gaertn*



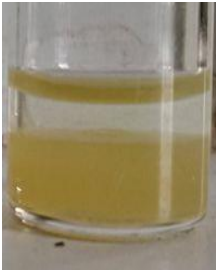



| Extraction | Chloroforme | Méthanol + l'eau distillée | Décoction |
|--------------------|--------------------|---------------------------------------|------------------|
| Pourcentage | 16,96% | 13,6% | 15,6% |











La différence de rendement entre les trois extraits peut être due aux techniques d'extractions utilisées. D'après (MOHAMMEDI Z. et ATIK F., 2011), le rendement d'extraction dépend fortement de la polarité du solvant, ce qui est démontré avec l'extrait décocté qui est relativement proche de celui du chloroforme avec (15,6%), cela est expliqué par le fait que l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules. (ALBANO ET MIGUEL, 2011)




V I.2. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des graines de l'espèce *Visnaga daucoides Gaertn*, la caractérisation des métabolites secondaires est basée sur des réactions de coloration et de précipitation. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 04 : Résultats d'extraction avec macération



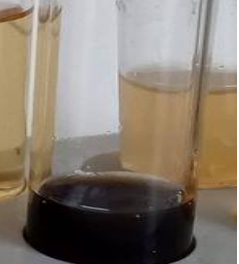


| Tests | Résultats | | | |
|----------------------------|-----------------------------|---|---|---|
| | Macération (Chloroforme) | Coloration | Macération (Méthanol Eau distillée) | Coloration |
| Quinones libres | +++ |  | ++- |  |
| Alcaloïdes | +++ |  | --- |  |
| Tanins | --- |  | +- |  |

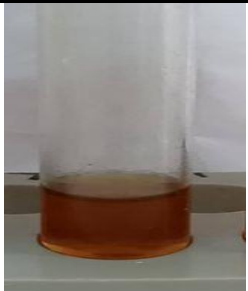

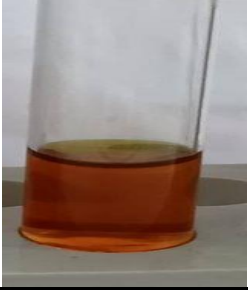


| | | | | |
|--------------------------------|-------|---|-------|---|
| Tanins vrai | --- |  | --- |  |
| Saponines | + - - |  | + - - |  |
| Stérols et Polyterpènes | --- |  | --- |  |
| Flavonoïdes | +++ |  | +++ |  |
| flavonoïdes glycosides | ++ - |  | ++ - |  |

| | | | | |
|-------------------------|-------|---|-------|---|
| Sucre réducteurs | + - - |  | --- |  |
| Phénols | --- |  | + - - |  |

Les résultats d'extraction avec macération (chloroforme) et (Méthanol + eau) montrent que cette plante très riche en alcaloïdes (+++), flavonoïdes (+++) et Quinones libre (+++) dans l'extrait chloroforme, pour les composés qui sont moyennement présent (++-), on a enregistré les quinones libres (++-) dans l'extrait chloroforme et les flavonoïdes glycosides dans les deux extraits chloroforme et méthanol - eau, de même on note une faible présence(++-) des sucres réducteurs et les saponines dans l'extrait chloroforme, les phénols, les saponines et les tanins dans l'extrait méthanolique. En parallèle, on note l'absence des tanins vrais, des stéroles et polyterpènes dans les deux extraits, les sucres réducteurs et les alcaloïdes uniquement dans l'extrait méthanolique et les phénols et tanins dans l'extrait chloroforme.

Tableau 05 : Résultats d'extraction avec décoction de *Visnaga daucoides* Gaertn.

| Tests | Décoction | Coloration |
|-----------------------|-----------|---|
| Quinones libre | --- |  |
| Alcaloïdes | + + - |  |
| Tanins | + + + |  |
| Tanins vrai | --- |  |
| Saponines | + + + |  |

| | | |
|-------------------------------|-----|---|
| Stérol et Polyterpènes | --- |  |
| Flavonoïdes | +++ |  |
| flavonoïdes glycosides | ++- |  |
| Sucre réducteur | --- |  |
| Phénols | +- |  |

Pour l'extrait décocté, nous avons enregistré une forte présence des saponines (+++), des tanins (+++) et des flavonoïdes (+++) et une présence moyenne (++) des flavonoïdes glycosides et des alcaloïdes, alors que les composés qui sont les plus faiblement présents (+-) sont les phénols, en parallèle, on note l'absence des quinones libres, tanins vrais, des stéroles et polyterpènes et les sucres réducteurs.

VI.3. Résultats des analyses quantitatives des métabolites secondaires

VI.3.1. Dosage des Tanins

L'analyse des tanins condensés a été réalisée par la méthode décrite par (HEIMLER et al. 2006), en utilisant comme standard la catéchine. L'absorbance a été lue à 530 nm. ; La teneur des tanins est exprimée en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait de lyophilisat (mg EC/g), à partir des données d'absorbance et d'une droite d'étalonnage $y = 0,2385x + 0,0721$ et le coefficient de corrélation $R^2=0,986$. (Fig.30).

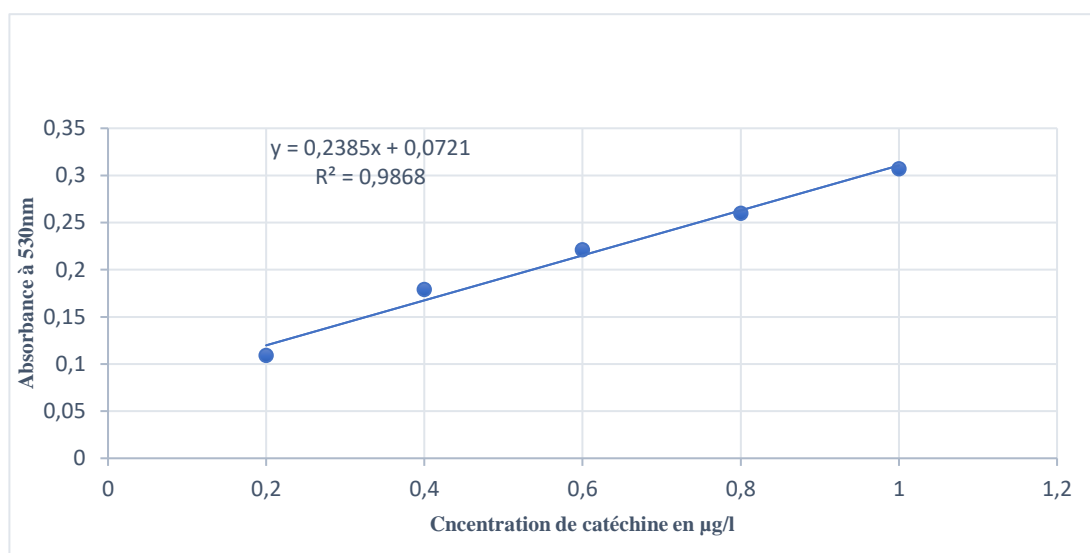


Fig. 30 : Courbe d'étalonnage de catéchine.

Tableau 06 : Teneurs des extraits aqueux de *Visnaga aucoïde Gaertn* en tannins.

| | |
|----------------|-----------------|
| [C] en Tannins | 1.429±0,005µg/l |
|----------------|-----------------|

V I.3.2. Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (RIBEREAU-GAYON, 1968). Les teneurs en flavonoïdes totaux des graines de la plante étudiée ont été estimés grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec une substance de référence la quercétine à différentes concentrations, l'absorbance est lue à 430 nm.

La courbe d'étalonnage a montré un coefficient de corrélation $R^2 = 0,940$ et une formule de régression $y = 0,136x + 0,2446$. (Fig.22).

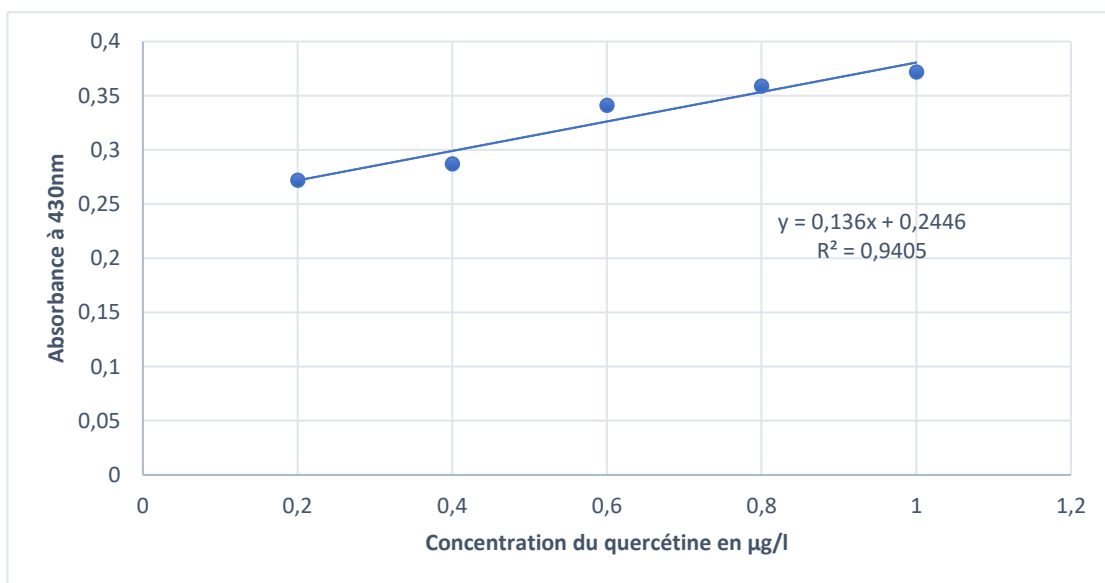


Fig. 22: Courbe d'étalonnage de Quercétine.

Tableau 07 : Teneurs des extraits aqueux de *Visnaga daucoïde Gaertn* en Flavonoïde.

| | |
|---------------------|-------------------|
| [C] des flavonoïdes | 5, 116±0,004 µg/l |
|---------------------|-------------------|

NB : Notons que les extraits de *Visnaga daucoides Gaertn* contiennent beaucoup de produits majoritaires qu'on n'a pas pu les identifier par manque d'étalons adéquats.

V I.4. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

La capacité antioxydante de molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux (PRIOR R L et al., 2005). La concentration inhibitrice 50%, représente la quantité de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50% de l'activité du DPPH. L'absorbance est mesurée à 517nm.

La valeur de la IC50 a été déterminée graphiquement par la régression linéaire, le pourcentage d'inhibition du DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance test} / \text{Absorbance contrôle}) \times 100$$

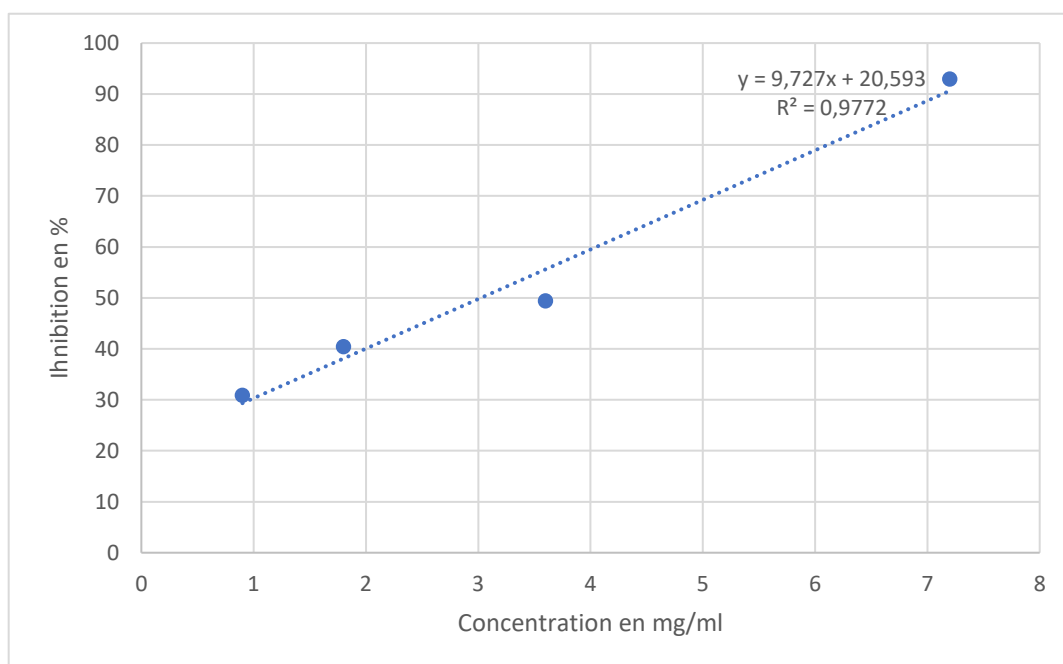


Fig. 23 : Courbe d'étalonnage de DPPH.

Tableau 08 : Teneurs de DPPH

$$\text{IC}_{50} = 3,023 \pm 0,146 \text{ mg/ml}$$

L'équation de la droite de régression : $Y = 9,727 x + 20,593$, avec $R^2 = 0,9772$

Donc le coefficient de corrélation est proche de 1, il ya une liaison marquée entre les deux variables x et y.

Les résultats indiquent clairement que les extraits aqueux possèdent un effet piègeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH avec une valeur de $3,023 \pm 0,146$ mg/ml. Plus sa valeur est petite, plus l'activité est grande (YAICI K . et al., 2019).

Discussion Générale

Les rendements des trois extraits (aqueux, chloroforme, méthanolique) des graines de *Visnaga daucoides Gaertn* , révèlent que le rendement le plus élevé est celui d'extrait chloroforme qui est de l'ordre de 16,96 % suivi par l'extrait aqueux avec 15,6% et seulement 13,6% pour l'extrait méthanolique, cette différence de rendements entre les extraits peut être due aux techniques d'extraction utilisées. Selon (**KHODDAMI A .et al., 2013**), l'utilisation de plantes sous forme de poudre rend l'extraction plus efficace, car l'échantillon devient plus homogène, la surface de contact avec le solvant devient plus grande, la pénétration à l'intérieur des cellules est plus facile. En effet, (**KHODDAMI et al., 2013**) ont montré que le méthanol et l'eau sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure récupération de composés phénoliques. D'après (**MOHAMMEDI Z. et ATIK F., 2011**). Le rendement d'extraction dépend fortement de la polarité du solvant, la préparation de l'extrait de la partie aérienne de *Visnaga daucoides Gaertn* a été effectué par l'eau qu'il est un solvant polaire le rendement d'extraction s'augmente par la chaleur cela est expliqué par le fait que l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules. (**ALBANO et MIGUEL ., 2010**)

L'étude du criblage phytochimique des extraits des graines de *Visnaga daucoides Gaertn* montre que l'extrait décocté est fortement riche en saponines (+++), en tanins (+++) et en flavonoïdes (+++), de même l'extrait chloroforme mis en évidence une forte présence en alcaloïdes (+++), en flavonoïdes (+++) et en quinones libre, alors que l'extrait méthanolique, révèle uniquement une forte présence en flavonoïdes (+++). La richesse de notre plante qui appartient à la famille des *apiacées* , cette dernière est connue par ses propriétés pharmacologiques d'après la constitution chimique et les composants identifiés majoritairement représentés par les saponines, les polyphénols, et les alcaloïdes qui sont des métabolites secondaires caractéristiques de cette famille. (**KADRI H., 2017**).

La mise en évidence de ces métabolites majoritaires, nous a conduits à la quantification de certains composés comme les tanins et les flavonoïdes selon la disponibilité des produits chimiques dans le laboratoire.

Le dosage quantitatif des tanins montre une valeur égale à $1,429 \pm 0,005 \mu\text{g EQ/mg E}$, on déduit que la concentration des tanins dans les extraits de la plante, dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits, parallèlement l'étude quantitative des

flavonoïdes révèle une teneur de $(5,116 \pm 0,004 \mu\text{g EQ/mg E})$, il apparaît clairement que la plante étudiée renferme autant des flavonoïdes que des tannins, cette constatation est appréciée par la solubilité des flavonoïdes va dépendre de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des flavonoïdes. Entre autres, la solubilité des flavonoïdes est affectée par la polarité du solvant utilisé. **(MAHMOUDI H. et al., 2013)**. L'utilisation d'un solvant aqueux a permis d'extraire à partir d'une partie aérienne de *Visnaga daucoïdes Gaertn*, des composés polaires tels que les flavonoïdes qui font partie des principaux composants des plantes à activité antioxydante. **(DIENG S I M. et al., 2017)**; La teneur des flavonoïdes des plantes varie selon certains paramètres durant la croissance de la plante tels que : la salinité, la sécheresse et l'exposition solaire qui agissent sur la biosynthèse des métabolites secondaires. ; et aussi cette variation peut être due à la localisation géographique, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la maturité de la plante et la durée de conservation. **(GHEFFOUR K et al., 2015)**.

L'évaluation de l'activité antioxydante est basée sur le pouvoir inhibiteur des extraits sur le DPPH, les résultats indiquent clairement que les extraits aqueux possèdent un effet piégeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH avec une valeur de $3,023 \pm 0,146 \text{ mg/ml}$. Plus sa valeur est petite, plus l'activité est grande **(YAICI K. et al., 2019)**. L'activité antioxydante, confirme que les flavonoïdes sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. En effet, l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des flavonoïdes, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. **(FADILI K. et al., 2015)**.

Conclusion & Perspectives

Conclusion

Visnaga daucoides Gaertn est une espèce largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour le traitement de diverses maladies tel que le vitiligo qui est une maladie auto-immune.

L'objectif primordial assigné par cette étude afin d'évaluer les propriétés antioxydantes de la plante *Visnaga daucoides Gaertn*. L'extraction des graines de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés et la méthode d'extraction. Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux (16.9%) suivi par l'extrait chloroformique (15.6%) et l'extrait méthanolique (13,6). La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les concentrations en Tanins de $1.429 \pm 0,005 \mu\text{g/l}$ et en flavonoïdes de $5,116 \pm 0,004 \mu\text{g/l}$.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du radical libre DPPH a indiqué que l'extrait aqueux a montré une bonne efficacité antioxydante avec des IC50 de $3,023 \pm 0,146 \text{ mg/ml}$.

On déduit que la plante *Visnaga daucoides Gaertn* présente une bonne activité antioxydante qui pourrait être utilisé dans le traitement de la maladie de *Vitiligo*. Ces résultats obtenus in vitro ne constituent que la première étape à la recherche de substances d'origine naturelle à activité biologique, une étude in vivo nous semble avoir une meilleure compréhension de l'activité antioxydante de cette plante.

Il serait souhaitable de compléter et approfondir ce travail par une étude phytochimique plus détaillée.

- ✎ Dans un premier temps, faire un fractionnement de ces extraits afin d'identifier les molécules responsables du pouvoir antioxydant, en utilisant des techniques d'identification plus performantes.
- ✎ Dans un deuxième, il serait intéressant d'évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes et d'orienter les tests, in vivo, afin de déterminer de nouveaux agents thérapeutiques.
- ✎ Il serait également intéressant d'évaluer l'activité antioxydant, in vitro, sur des cellules isolées de l'organisme étudié pour justifier les résultats obtenus.
- ✎ Enfin d'autres activités biologiques peuvent également être évaluées aussi bien in vitro qu'in vivo (anticoagulante, antispasmodique ... et autres).

Références Bibliographiques

Références bibliographiques



- **AAMRI H. (2018).** Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du vitiligo à Marrakech et Agadir. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech-Maroc.
- **AKROUM S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de pour l'obtention du doctorat en sciences physio-toxicologie. Université Mentouri de Constantine- Algérie.
- **ALAMI S. (2019).** La pelade : profil clinique, épidémiologique et dromoscopique et évaluation thérapeutique (à propos de 54 cas). Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed v – Rabat-Maroc
- **ALAIN T., PICARDO M., (2009).** Vitiligo. *Engl J Med*, (360), 160-169p
- **ALBANO S M., MIGUEL M G. (2011).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, (33) : 2, 338-343p.
- **ALGECIRAS-SCHIMNI A., COOK W J., MILZT C., SAENGE A K., KARONB S. (2007).** Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*. 40, 1311 – 131p.
- **ALLAB L. (2019).** Evaluation de l'activité antifongique des extrais d'asphodelus microcarpus. Mémoire de fin d'études pour l'obtention de diplôme de Master en biotechnologies. Université Mouloud Mammeri de Tizi -Ouzou- Algérie.
- **ALI-RACHEDI F., MERAGHNI S., TOUAIBIA N., SABRINA M. (2018).** **Analyse** quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne

Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. (87), 13 -21 p.

- **ALOUA R. (2017).** L'efficacité de tacrolimus topique à 0,03 % dans le traitement du vitiligo de l'enfant. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad-Marrakech-Maroc.
- **AMAROWICZ R., PEGG R B., RAHIMI-MOGHADAME P., BARL B., WEILJ A. (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84: p. 551 – 562.
- **AMMOUR A., JOUARY T., TAIEB A., MAZEREEUH -HAUTIER J. (2010).** Vitiligo de l'enfant. *Annales de dermatologie et virologie, Elsevier-Masson-France*. 137 : p. 654 -658.
- **AMMOUR A., ZAAF S. (2020).** Composition phytochimique et activité antioxydant des différents extraits de *Rhus pentaphylla Desf.* Mémoire de fin d'études pour l'obtention de diplôme de Master en pharmacotoxicologie. *Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem- Algérie*.
- **AREF M., HEDED M. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydant et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica L* (Région D'oued Souf). Mémoire de fin d'études pour l'obtention de diplôme de Master en biochimie appliquée .Université Echahid Hamma Lakhadar d'El -Oued- Algérie.
- **ARRAKI K. (2014).** Les stilbénoides chez les cypéracées : isolation, identification et étude de leurs activités biologiques. identification et dosage des stilbènes dans des vins Tunisiens. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur. Université de Bordeaux –France et Université de Carthage –Tunisie.

- **AYAS N., MESSAOUDI K., (2017).** Enrichissement de la margarine en caroténoïdes. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie. Université A. Mira – Bejaia-Algérie

B

- **BARJIJ I. (2015).** Vitiligo. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah-Maroc.
- **BELHOUARI M. (2008).** Vitiligo chez l'enfant (à propos de 4 cas). Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Mohammed V- Rabat-Maroc.
- **BEAUDEUX J L., GENEVIEVE D. (2011).** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2^{ème} édition. *Edition Lavoisier Chantal Arpino*, p.130 - 131.
- **BEGUEL J P. (2012).** Etude de la capacité antioxydant en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Thèse pour l'obtention du doctorat en biologie marine. Université de Bretagne- occidentale
- **BELLAMINE K. (2017).** Phytothérapie clinique – Endobiogénie – Affections dermatologiques – plantes médicinales. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed V – Rabat-Maroc.
- **BELYAGOUBI Née BENHAMMOU N. (2012).** Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse pour l'obtention du doctorat en substances naturelles, activités biologiques et synthèse. Université Aboubakr Belkaid –Tlemcen- Algérie.
- **BENALIA B. (2020).** Différentes méthodes d'extraction de l'espèce matricariachamomill : (analyse chimique et étude biologique). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie. Université de Mohamed Khider de Biskara- Algérie

- **BENCHALAL K., HANI G. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydant de l'écorce de *Fraxinus angustifolia* in vivo. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie option biochimie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia- Algérie.
- **BENKHALDI D. (2017).** Activité antimicrobienne des extraits végétaux application à l'inhibition de biofilm des bacilles thermophiles d'origine laitière. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en microbiologie et contrôle de qualité. Université Aboubakr Belkaid -Tlemcen- Algérie.
- **BIBI K. (2008).** Le vitiligo physiopathologie, pathologie associée et Traitement. Thèse pour l'obtention du doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier-Franc
- **BOIZOT N., CHAPENTIER J P. (2020).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, p. 79-82.
- **BOUDEHANE E., BOUCHEFIFA F., DESDOUS N. (2019).** Screening phytochimique et activité antioxydant de quelques plantes médicinales. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie option biochimie. Université Muhammad Al-Siddiq Bin Yahya Jijel- Algérie.
- **BOUKENI G., TOUM T. (2020).** Activité antioxydant des composés phénoliques d'*Asphodelus microcarpus*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biochimie appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou- Algérie.

C

- **CANAVY B., DIDIER J C., JACQUELET F. (2014).** Mieux vivre avec une maladie professionnelle. *Edition Lulu Press*. 116 p.

- **CARLIER L. (2015).** Utilisation hors amm du tacrolimus dans le traitement du vitiligo. Thèse pour l’obtention du doctorat en Pharmacie. Université de Bordeaux-France.
- **CAVALIE M. (2014).** Traitement proactif du vitiligo non segmentaire par tacrolimus pommade à 0,1% : étude en double aveugle versus placebo. Thèse pour l’obtention du doctorat en médecine. Université de Nice- Sophia-Antipolis-France.
- **COWAN M M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin Micobial.* 12 (4), 564 – 582p.

D

- **DAVIDE G W. (2015).** **Encyclopedia** of mind enhancing foods, drugs and nutritional substances. Second edition. *McFarland & Company, Iuc, Publishers Jefferson, North Carolina.*166p.
- **DESMIER T. (2016).** L’antioxydante de nos jours : définition et applications. Thèse pour l’obtention du doctorat en pharmacie. Université Limoges-France.
- **.DJAMA S., KAROUR T. (2020).** Les alcaloïdes : Classification, extraction, criblage et activités biologiques. Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention d’un diplôme de Master en sciences alimentaires. Université Mouloud Mammeri de Tizi - Ouzou- Algérie.
- **DJELLAB N E., FELLAH F Z., MERZOUG D. (2020).** Effet antibactérien des huiles essentielles d’*Ammi visnaga* sur quelques espèces bactériennes. Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention d’un diplôme de Master en biologie. Université Djilali Bounaaja.
- **DIENG S I M., FALL, A. D., DIATTA-BADJI K., SARR A., SENE, M., BASSENE E. (2017).** Evaluation de l’activité antioxydante des extraits hydro-

ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. International Journal of Biological and Chemical Sciences, (11): 2, 768-776p

- **DILLEKH F., MESSOUDI I. (2020).** Etude de quelques activités biologiques de glycyrrhizin extrait de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra L.* de deux régions. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biochimie appliqué. Université Mohamed Khider de Biskra- Algérie
- **DO T. (2016).** Evaluation de performances de la chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) dans l'analyse (qualitative et quantitative) des métabolites secondaires dans les extraits naturels. Thèse pour l'obtention du doctorat en Chimie. Université Nice-Sophia Antipolis-France.
- **DOHOU N., YAMNI K., GMIRA N., IDRISSE HASSANI L M. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine thymelaealythroïdes, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 142 : p. 61-78.

E

- **ELFAKIR M A. (2020).** Profil des patients souffrants de pathologie thyroïdiennes: enquête auprès des officinaux. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed V – Rabat-Maroc.
- **EL KOLLI M. (2016).** Composition chimiques et activités biologique des Huiles Essentielles de quelques *Apiaceae*, *carum montanum Benth* et Hook et *Daucus gracilis stem*. Thèse pour l'obtention du doctorat en Microbiologie. Université Ferhat Abbas Setif – Algérie.

F

- **FADILI, K., AMALICH, S., N'DEDIANHOVA, S. K., BOUACHRINE, M., MAHJOUBI, M., EL HILALI, F., & ZAIR, T. (2015).** Teneurs en polyphénols et

évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides* [Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides*]. *Int J Innov Sci Res ISSN*,(17), 2351-8014p

- **FETTAH A., LAOUZ H. (2019).** Etude phytochimique comparative des différents extraits de *Zygodhryllum album L* de la région d'Ouargla et la région El Oued. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biochimie appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra- Algérie.

G

- **GABASTON J. (2019).** Stilbènes de la vigne et d'essences forestières (pin, épicéa) : étude phytochimique et recherche d'activités anti-oomycète et insecticide. Thèse pour l'obtention du doctorat en biologie végétale. Université de Bordeaux- France.
- **GAHAT T. (2016).** Utilisation de la photothérapie dans le traitement du vitiligo. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux- France.
- **GAUTHIER Y. (2006).** Consultation des troubles de la pigmentation. Hôpital Saint André, Bordeaux. *Association française du vitiligo*.
- **GESVRINE Z A. (2021).** La sélection matériels de laboratoire. Catalogue. Laboratoire Humeau France.
- **GHAFOURIANI E., GHAFOURIAN S., SADEGHIFARD N., MOHEBI R., SHOKOOITTNI Y., NEZAMOLESLAMII S., HAMAT R A. (2015).** Vitiligo symptoms pathogenesis and treatment, 4 : p. 485-48.
- **GHNIMI W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux euphorbiacées : *ricinus communis* et *jatropha curcas* : évaluation de leur propriété anti- oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'a cetylcholinestérase. Thèse pour

l'obtention du doctorat en Chimie. Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie).

- **GIROTTI-CHANU C. (2006).** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *microtea debilis*. Thèse pour l'obtention du doctorat en biochimie. Institut national des sciences appliquées de Lyon- France.
- **GOUDABLE J., FAVIER A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol.* 11 : p. 115 – 120.
- **GOUDJIL J B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse pour l'obtention du doctorat en génie des procédés et environnement. Université Kasdi Merbah – Ouargla.
- **GORZKOWSKI M. (2022).** Vitiligo : causes, symptômes et traitements. L'actu Pharma GDD.

H

- **HADDOUCHI F., CHAOUCHE T M., HALLA N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydante et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 16(1), p. 254-262.
- **HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J O., CHARLIER C., CHAPELLE J P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liège*, 62 (10), p. 628-638.
- **HALLIWELL B., GUTTERIDGE J M C. (2007).** Free radicals in biology and medicine. *Fourth Edition New York, Oxford University PRESS*
- **HANIFI N. (1991).** Importance des ressources phytogénétiques et leur utilisation en Algérie. conservation des ressources végétales.

- **HASHIM S., JAN A., KHAN B M., A KHAN M A. (2014).** Phytochemistry and medicinal properties of *ammi visnaga (apiacae)*. *Pak. J. B*, (46):3 , 861-867p.
- **HASSAINE A. (2020).** Les composés phénoliques. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie. Université Badji Mokhtar Annaba- Algérie.
- **HERIZI L., DAHMOUNE Y. (2021).** Matières bioactives et propriétés pharmacologiques de la plante médicinale *Ammi majus L.* Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master académique en biodiversité et physiologie végétale. Université Mohamed Boudiaf- M'sila- Algérie.
- **HOFFMANN L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3- O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse pour l'obtention du doctorat en biologie moléculaire et cellulaire. Université Louis Pasteur -Strasbourg.
- **HUANG D., OU B., PRIOR R L., (2005).** The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *agric. Food Chem.* (53), 6, 1841–1856p.

I

- **INGLIN C. (2019).** Guide Vitiligo. 2000 exemplaires en allemand 500 exemplaires en français. 4- 36 p.
- **IQBALHUSSAIN., MONEEB UR REHMANKHATTA., RIAZULLAH ZIA MUHAMMAD., NAE EM KHAN., FARHAT ALI KHAN., ZAHOORULLAH AND SAJJADHAIDER. (2011).** Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of *Khyberpakhtunkhwa*. *Pakistan African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), p. 746-750.

J

- **JANDI M. (2017).** Plantes médicinales en dermatologie et en cosmétologie : enquête auprès des herboristes de la région de Béni Mellal. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Marrakech-Maroc.

K

- **KABBAJ N. (2010).** Les uvéites en médecine interne. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech-Maroc.
- **KADRI H., DJILANI S.E., DJILANI A., (2013).** Phytochemical constituents, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Arisarum vulgare* seeds. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 12(2), 169-173p
- **KAMAL F Z., STANCIU G D., LEFTER R., COTEA V., NICULAU M., ABABEI D C., CIOBICA A., ECH-CHAHAD A. (2022).** Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Ammi visnaga L.* Essential Oil. (11), 347, 2-18p.
- **KERBOUCHE-HAMMOUM A. (2016).** Etude de la composition chimique et l'activité biologique des huiles et d'extraits non volatils de sarriette (*Satureja calamintha scheele*), d'origan (*Origanum floribundum munby*), de germandrée (*Teucrium polium briq*) et de khella (*Ammi visnaga lamk*). Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences agronomiques. Ecole nationale supérieure agronomique El harrach –Algérie.
- **KHENAFOU K. (2017).** Contribution à l'étude phytochimique de quelques métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) de la racine de *Carlina acaulis L.* de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un

diplôme de Master en Sciences des aliments. Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen- Algérie.

- **KHIAL F. (2017).** Évaluation de l'activité antioxydante des différentes parties des fruits de *Celtis australis* (micocoulier de Provence) de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie option biochimie appliquée. Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen- Algérie.
- **KINANI M. (2014).** L'intérêt de la calprotectine et de l'alpha-1- antitrypsine dans le diagnostic des maladies inflammatoires chroniques intestinales. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed V – Rabat-Maroc.
- **KLUGER N. (2008).** Retentissement psychosocial du vitiligo et des autres dépigmentations cutanées, 3 : p. 106 - 109.
- **KHODDAMI, A., WILKES, M., ROBERTS, T (2013).** Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, (18): 2, 2328–2375p.
- **KRIF S. (2003).** Métabolites secondaire des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda activités biologique et étude chimique de plantes consommées. Thèse pour l'obtention du doctorat en écologie et chimie des substances naturelles. Museum national d'histoire naturelle - Mnhn Paris-Français.
- **KUBELIS-LÓPEZ D M., ZAPATA-SALAZAR N A., SAID-FERNÁNDEZ S L., SÁNCHEZ-DOMÍNGUEZ C N., SALINAS-SANTANDER3 M A., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ H G., VÁZQUEZ-MARTÍNEZ1 O T., WOLLINA U., LOTTI T., OCAMPO-CANDIANI J. (2021).** Updates and new medical treatments for vitiligo, 22 (797), p. 2 -11.

L

- **LADGHAM-CHICOUCHE K., BOUSSAFI A. (2018).** Étude du pouvoir conservateur d'extrait brut d'acides phénols et des alcaloïdes de *Fumaria agraria* ; caractérisation par GC-MS des acides phénols. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en pharmacotoxicologie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia- Algérie.
- **LARABA M., SERRAT A., OUASSAA G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Toxicologie et Santé. Université des Freres Mentouri Constantine- Algérie.
- **LAROCHE M., ANTON P M., GARCIA R. (2003).** Protective effect of dietary nitrate on experimental gastritis in rats. *Br J Nutr*, 89 : p. 777-786.

M

- **MACHEIX., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. *Edition Presses Polytechniques & Universitaires Romandes*, 2 : p. 2-3.
- **MAHMOUDI S., KHALI M., MAHMOUDI N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technologie*, 5 (2), p. 35-40.
- **MARTINELLI L M B. (2021).** Étude de la biosynthèse des terpènes et de leur régulation chez *Pelargonium x hybridum*. Thèse pour l'obtention du doctorat en Sciences Ingénierie Santé. Université Jean Monnet Lyon-France.
- **MEDART J. (2009).** Manuel pratique de nutrition : l'alimentation préventive et curative. 2^{ème} édition. *Edition Bruxelles : de Boeck ; DL*, p. 51 -52.

- **MEDJILI S., ZAGHANE W. (2018).** Etude de l'activité antioxydante de la plante *Artemisia herba alba*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. Bordj Bouariradj-Algérie
- **MELHAOUI H., ENABDALLAH K (2010).** La place des dermocorticoïdes dans le traitement du vitiligo chez l'enfant (à propos de 8 cas). Thèse pour l'obtention du doctorat en Médecine. Université Mohammed V Rabat-Maroc.
- **MOHAMMEDI Z., ATIK F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla (L.) Karst*, 2 : p. 609-615.
- **MUANDA F N. (2010).** Identification des polyphenols évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse pour l'obtention du doctorat en Chimie organique. Université Paul Verlaine – Metz-France.
- **MUELLE-HARVEY I., BEE G., DOHME-MEIER F., HOSTE H., KARONEN M., KOLIKER R., LUSCHER A., NIDERKORN V., PELIKAAN W F., SALMINEN J P., SKOT L., SMITH L M J., THAMSBORG S M., TOTTERDELL P., WILKINSON I., WILLIAMS A R., AZUHNWI B. N., BAERT N., GROSSE BRINKHAUS A., COPANI G., DESRUES O., DRAKE C., ENGSTOM M., FRYGANAS C., GIRARD M., HUYEN N T., KEMPF K., MALISCH C., MORA -ORTIZ M., QUIJADA J., RAMASAY A., ROPIAK H M., WAGHORN G C. (2018).** Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: importance of structure, concentration and diet composition. *Invited review. Crop Science*, 59: p. 861-885

N

- **NAIMI M. (2017).** Cahier technique - 1 : Technologie et maintenance des équipements de laboratoires. Formation. Centre Universitaire Nour Bachir - El-bayadh

- **NAUMANN H D., TEDESCHI L O., ZELLER W., HUNTLEY N F. (2017).** the role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations, and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46 : p. 929-949.
- **NAJJAA H., ZOUARI S., ARNAULT I., AUGER J., AMMAR E. ET NEFFATI M. (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum L. et Allium ampeloprasum L.* *Botany Letters*, 158(1), p. 111-123.

O

- **OTMANI K., FETAYAH A. (2020).** Screening phytochimique et biologique des plantes à coumarine. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master biotechnologie végétale. Université Mohamed Boudiaf- M'sila-Algérie.
- **Ou B., HAMPSCH-WOODILL M., PRIOR R L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistr*, 49: p. 4619 – 4626.
- **OYEDEMI S O., AFOLAYAN A J. (2011).** In vitro In vivo antioxidant activity of aqueous leaves extract of *leonotis leonurus (L)*: R.Br. *International Journal of Pharmacology*, 7 (2), p. 248 -256.

P

- **PACKER L., KRAEMER K., RIMBACH G. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), p. 888 – 895.
- **PASSERON T. (2015).** Vitiligo. réalités thérapeutiques en dermatovénérologie. *Université Côte d'Azur, Inserm U1065, C3M, Nice-France*, 274 : p. 44 -48.

- **PASTRE J O C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestique. 3 : (4116), p.1 -120.
- **PEARL E. (2005).** Nouvelles perspectives dans la pathogenèse et le traitement du vitiligo, 3 : p. 198 -203.
- **PERNET J. (2015).** Insuffisance surrénale aiguë. Service d'Accueil des Urgences de l'hôpital Tenon Paris-France.
- **PLOURDE P. (2016).** Le vitiligo. Monographie. Université de Québec-Canada.
- **PRIETO P., PINEDA M., AGUILAR M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269 : p. 337 – 341.
- **PRIOR R L., WU X., SCHAICH K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, (53): 4 290–4302p.

R

- **RAHOU H. (2017).** Estimation quantitative des polyphénols totaux et évaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de Lavandula de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biochimie molécules bioactives Université Aboubakar Belkaid Tlemcen-Algérie.
- **REBAT M., HALDER M D., JOHATHAN L., CHAPPELL M D. (2009).** Vitiligo update. *Elsevier Inc.* 10: p. 86 -92.
- **REJEB I. (2008).** Etude de l'effet de frradiation sur les polyphénols du curcumin. diplôme national d'ingénieur en biologie industrielle. Université du 7 novembre à Carthage –Tunisie.

- **REZAIRE A. (2012).** Activité antioxydant et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse pour l'obtention du doctorat en phytochimie. université des Antilles et de la Guyane
- **RIBÉREAU-GAYON P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. *1 vol.* (X-254 p.)
- **RICHTER G. (1993).** Métabolisme des végétaux. physiologie et biochimie. Ed. presses polytechniques et Universitaire Romandes.
- **Rira M. (2019).** Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. Thèse pour l'obtention du doctorat en génétique, physiologie, pathologie, nutrition, microbiologie, santé, innovation. Université Clermont Auvergne -France.
- **ROBERFROID M B., COXAM V., DELZENNE N M. (2008).** Aliments fonctionnels. *2^{ème} édition. Lavoisier TEC & DOC*, p. 209- 215.
- **ROLLAND Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *OCL VOL*, (11) : 6, 419-424p

S

- **SAFER S. (2018).** Teneur en polyphénols, tannins et flavonoïdes et capacité antioxydant d'extrait méthanolique d'une plante. Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme de Master en Chimie Appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem-Algérie
- **SAFFIDINE K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse pour l'obtention du doctorat en Microbiologie. Université Feehat Abbas Setif -Algérie.

- **SANOUE P. (2015).** Polyphénols totaux et activité antiradicalaire des extraits éthanoliques de *Solanum Lycopersicum* (var Roma). Licence professionnelle de génie biologique. Université polytechnique de Bobo -Dioulasso.
- **SAIDI I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbas: Extraction des substances bioactives. Thèse pour l'obtention du doctorat en enzymes, Micro-organismes et Bio-industries. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbas -Algérie.
- **STARGROVE M B., TREASURE J., MCKEE D L. (2008).** Herb, nutrient and drug interaction clinical implication and therapeutic strategies. *Edition Mosby Elsevier*, 733 p.
- **STRACK D. (1997).** Plant Biochemistry . Phenolic métabolism. 387-416p.

T

- **THIBAUT G. (2016).** Utilisation de la phototherapie dans le traitement du vitiligo. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux-France.
- **TOLBA I. (2016).** Détermination d'un méta -paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en sciences de l'environnement. Université du Québec-Canada.

V

- **VOGEL A., (2013).** Encyclopédie des plantes. L'univers des plantes médicinales; Act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett.*, 153 (1- 2), 1-5p.

Y

- **YAICI K., DAHAMNA S., MOUALEK I., BELHADI H., HOUALI K. (2019).** Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydante et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L. (Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien a l'est Algerien, (19): 4, 226-234 p.
- **YOVAN G. (2006).** Le vitiligo. encyclopedie ophanet grand public. Bordeaux-France.
- **YVES-ALAIN B., JANAT., MAMYRBEKOVA B., BOUA B., FEZAN H. TRABI., EHOUAN E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. And *Zarucchi* (Caesalpiniaceae), *Sciences & Nature Vol.4* (2), p. 217 – 225.

Z

- **ZAGNE A. (2011).** Synthèse et propriétés biologiques de nouveaux flavonoïdes à base saccharidiques. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en chimie. Université D'Oran -Algérie.
- **ZERGUI F Z. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique et possibilités dévalorisation d'une espèce dunaire du littoral oranais *Matthiola sinuât* (L).RBr.1812. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en biodiversité et conservation des zones humides. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes-Algérie.

Annexes

Annexe n° 01

✂ **Solution NaOH (1/10)**

NaOH 1g
Eau distillée 10 ml

✂ **Solution chlorure ferrique FeCl₃ à 1 %**

FeCl₃ 1g
Eau distillée 100 ml

✂ **Solution HCl 50 %**

HCl 50 ml
Eau distillée 100 ml

✂ **Solution KOH 1%**

KOH 1g
Eau distillée 100 ml

✂ **Solution chlorure d'aluminium à AlCl₃ à 2%**

AlCl₃ 2g
Méthanol 100 ml

✂ **Solution Vanilline 4%**

Vanilline 4g
Méthanol 100 ml

Annexe n° 02 : Traitement conventionnel du Vitiligo

Dermocorticoïdes




| | |
|----------|---|
| Elidel® |  A tube of Elidel cream (30g) and its corresponding box. The tube is white with a yellow and orange wave design. The box is white with a similar design and the text 'ELIDEL' and '30 g'. |
| Prograf® |  Two boxes of Prograf capsules. The top box is for 1 mg capsules (5 blister packs of 10 capsules) and the bottom box is for 0.5 mg capsules (5 blister packs of 10 capsules). Both boxes are white with blue and red accents and the Astellas logo. |

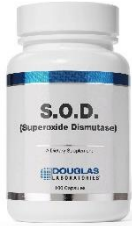


Camouflage par des cosmétiques

| | |
|-----------------|--|
| Dermacolor® |  A small white jar of Dermacolor cream with a blue lid. The jar has 'DERMACOLOR' printed on it. |
| ColorTraction®, |  A black bottle of ColorTraction liquid makeup. The label is gold and black with the brand name 'ColorTraction' in a script font. |
| Kamaflage® |  A black tube of Sacha Kamaflage foundation. The label is black with white text: 'SACHA KAMAFLAGE FOUNDATION'. |
| Couvance® |  A compact powder case for Couvance. The case is white with a gold and black design. The lid is open, showing the powder inside. |

| | |
|------------|--|
| Unifiance® |  |
| Covermark® |  |

Supplémentation en vitamines et antioxydant

| | |
|-------------------------------------|---|
| Vitamine B12 |  |
| Vitamine C |  |
| Vitamine E |  |
| L'acide para-amino-benzoïque (PABA) |  |
| Glutathion peroxydases |  |

| | |
|-------------------------------------|---|
| <p>Superoxyde dismutases (SODs)</p> |  |
| <p>Catalase</p> |  |
| <p>Acide urique</p> |  |