

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

**Département de Biologie**

Laboratoire des Produits Naturels



# Mémoire de Master En Biologie

Spécialité : **Biochimie : Molécules bioactives**

Présenté et Soutenu le : **28-06-2017** par :

Me<sup>lle</sup> **RAHOU Hanan**

Titre

---

**Estimation quantitative des polyphénols totaux et  
évaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces  
de *Lavandula* de la région de Tlemcen.**

---

Jury :

Président	→ <b>Dr CHAUCHE Tarik</b>	MCB Université de Tlemcen
Examineur	→ <b>Dr AZZI Rachid</b>	MCA Université de Tlemcen
Encadreur	→ <b>Dr CHAUCHE Farah</b>	MCB Université de Tlemcen

**Année universitaire 2016-2017**

## *Remerciements*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à Allah qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour finir ce travail.*

*En premier lieu, je tiens à remercier mon encadreur Mme CHAOUCHE Farah, maitre de conférences B, pour avoir me diriger dans ce travail avec bienveillance et patience.*

*Je tiens vivement à remercier les membres du jury :*

*M<sup>r</sup> CHAOUCHE Tarik, maitre assistant B, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, pour avoir accepté de présider ce travail.*

*M<sup>r</sup> AZZI Rachid, maitre de conférences A, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés à l'estimation des teneurs en polyphénols et de l'activité antioxydante de trois espèces de *Lavandula* (*L. dentata*, *L. multifida*, *L. stoechas*) de la région de Tlemcen

Six extraits hydrométhanoliques ont été préparés à partir des feuilles et des fleurs des plantes étudiées. Les rendements obtenus sont variables avec un rendement plus important pour les feuilles de *L. dentata* (21,52%).

Les tests phytochimiques révèlent la présence des tanins et des flavonoïdes dans tous les extraits avec des intensités variables. Le dosage des phénols totaux par la méthode de Folin ciocalteu, montre que l'extrait des feuilles de *L. multifida* est le plus riche en phénols totaux (23.01 mg EAG/g MS).

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits, évaluée par deux méthodes chimiques, le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> et la réduction du fer, révèlent que les extraits ont des capacités antioxydants mais moins importantes que celles des contrôles positifs, le BHA et l'acide ascorbique, et que les extraits de *L. multifida*, notamment celui des feuilles, ont le pouvoir antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits.

**Mots clés** : *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida*, *Lavandula stoechas*, Polyphénols, Activité antioxydante, DPPH<sup>•</sup>, réduction du fer.

## *Liste des abréviations*

**ABTS** : 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**BHA** : **Butylhydroxyanisole**

**BHT** : Butylhydroxytoluène

**DPPH<sup>•</sup>** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG/gE** : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait

**EAG/gMS** : Equivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche

**CE<sub>50</sub>** : Concentration efficace 50

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power

**FTC**: Ferric thiocyanate method

**GPX** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion réduit

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

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité

**LDL**: Low Density Lipoprotein

**NADPH**: Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Anion Superoxyde

**OH<sup>•</sup>**: Radical hydroxyle

**ORAC**: Oxygen Radical Absorbance Capacity

**Rdt** : Rendement

**ROO<sup>•</sup>**: Radical peroxyde

**SOD**: Superoxyde dismutase

**TEAC**: Trolox equivalent antioxidant capacity

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Schéma récapitulatif de l'effet des espèces réactives de l'oxygène sur leurs cibles.....	03
<b>Figure 02</b> : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.....	04
<b>Figure 03</b> : Dérivés d'acide hydroxybenzoïques.....	09
<b>Figure 04</b> : Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques.....	09
<b>Figure 05</b> : Structures de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone.....	10
<b>Figure 06</b> : Structure chimiques de l'acide gallique .....	10
<b>Figure 07</b> : Structure chimique des tanins condensés.....	11
<b>Figure 08</b> : Structure des coumarines.....	11
<b>Figure 09</b> : Structure d'isoprène.....	12
<b>Figure 10</b> : Quelques structures chimiques des alcaloïdes.....	12
<b>Figure 11</b> : Forme réduite du radical DPPH'.....	19
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	22
<b>Figure 13</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations de contrôle positif BHA..	24
<b>Figure 14</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des feuilles de <i>L. dentata</i> .....	24
<b>Figure 15</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des feuilles de <i>L. multifida</i> .....	24
<b>Figure 16</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des feuilles de <i>L. stoechas</i> .....	25
<b>Figure 17</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des fleurs de <i>L. dentata</i> .....	25
<b>Figure 18</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des fleurs de <i>L. multifida</i> .....	25
<b>Figure 19</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de concentration de l'extrait des fleurs de <i>L. stoechas</i> .....	26
<b>Figure 20</b> : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique. ....	27

<b>Figure 21</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de <i>L. dentata</i> .....	28
<b>Figure 22</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de <i>L. multifida</i> .....	28
<b>Figure 23</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de <i>L. stoechas</i> .....	28
<b>Figure 24</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de <i>L. dentata</i> .....	29
<b>Figure 25</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de <i>L. multifida</i> .....	29
<b>Figure 26</b> : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de <i>L. stoechas</i> .....	29

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Principales sources d'ERO (endogènes et exogènes) .....	02
<b>Tableau 02 :</b> Les principales classes de composés phénoliques.....	08
<b>Tableau 03 :</b> Les rendements obtenus à partir des deux parties des plantes étudiées.....	21
<b>Tableau 04 :</b> Résultats des tests phytochimiques de chaque extrait.....	21
<b>Tableau 05 :</b> Teneur en phénols totaux des extraits des plantes étudiées exprimée en (mgEAG/g MS) et en (mg EAG/g extrait). .....	23
<b>Tableau 06 :</b> Les valeurs des IC50 trouvées pour les extraits hydrométhanologiques étudiés.....	26
<b>Tableau 07 :</b> Les valeurs des EC50 trouvées pour les extraits hydrométhanologiques étudiés.....	23

## *Liste des photos*

<b>Photo 01</b> : Feuilles de <i>L. dentata</i> .....	14
<b>Photo 02</b> : Fleurs de <i>L. dentata</i> .....	14
<b>Photo 03</b> : Feuilles de <i>L. multifida</i> .....	15
<b>Photo 04</b> : Fleurs de <i>L. multifida</i> .....	15
<b>Photo 05</b> : Feuilles <i>L. stoechas</i> .....	16
<b>Photo 06</b> : Fleurs <i>L. stoechas</i> .....	16

## *Table de matière*

Introduction .....	01
<b>1<sup>ère</sup> Partie : Synthèse bibliographiques</b>	
<b>Chapitre 1 : Stress oxydatif et antioxydants</b>	
1. Le stress oxydant .....	02
1. Les radicaux libres .....	02
2. Les systèmes antioxydants.....	03
3. Méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydants .....	03
<b>Chapitre 2 : Les métabolites secondaires</b>	
1. Les composés phénoliques.....	08
2. Les Terpènes.....	12
3. Les alcaloïdes.....	12
<b>Chapitre 03 : Plante étudiée</b>	
1. Description botanique et répartition géographique .....	14
2. Classification .....	16
3. Composition chimique .....	16
4. Les propriétés thérapeutiques .....	16
<b>2<sup>ème</sup> Partie: Matériels et Méthodes</b>	
1. Matériel végétal.....	18
2. Préparation des extraits hydro-méthanoliques.....	18
3. Tests phytochimiques des flavonoïdes et des tanins .....	18
4. Quantification des polyphénols totaux dans les extraits.....	18
5. Estimation de l'activité antioxydante .....	19
5.1. Piégeage du radical DPPH'.....	19
5.2. Pouvoir réducteur du fer.....	20
<b>3<sup>ème</sup> Partie: Résultats</b>	
1. Les rendements en extraits hydro-méthanoliques .....	21
2. Tests phytochimiques des flavonoïdes et des tanins.....	21
3. Teneur en polyphénols totaux.....	22
4. L'évaluation de l'activité antioxydant.....	23
4.1. Piégeage du radical DPPH'.....	23
4.2. Pouvoir réducteur du fer .....	27
<b>Discussion</b> .....	31
<b>Conclusion</b> .....	33
<b>Références bibliographiques</b> .....	34

# *Introduction*

Les radicaux libres sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardiovasculaires, l'arthrite rhumatoïde, le diabète et le processus d'apoptose, en plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécules (glucides, protéines et lipides). Pour cela, il est très intéressant de rechercher et d'identifier des antioxydants naturels à partir de plantes (**Cheurfa et Allem, 2016**).

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Ces propriétés dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Maihebiau, 1994**). La classe des composés phénoliques, présents chez tous les végétaux supérieurs, correspond à une très large gamme de structures chimiques et est caractérisée par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques. Parmi les propriétés qui sont à la base de leurs activités biologiques, leur capacité à se lier aux protéines (inhibition d'enzymes) et leur caractère antioxydant (piégeage de radicaux libres) (**Marcheix et al., 2005**).

Pour pallier les effets secondaires des antioxydants de synthèse tels que le butyl hydroxy anisole (BHA) et le butyl hydroxy toluène (BHT), efficaces mais toxiques, les scientifiques se trouvent devant l'obligation au recours à la phytothérapie (**Manian et al., 2008**).

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique avec un grand nombre de plantes aromatiques spontanées. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années (**Hasnat et Abdelouhid, 2013**).

C'est dans ce contexte que ce travail a pris naissance, dans le but de la valorisation de la flore de l'ouest algérien en particulière la recherche des substances antioxydants. Il s'agit de l'étude des activités antioxydantes des extraits de *Lavandula stoechas*, *Lavandula multifida* et *Lavandula dentata*, des plantes aromatiques collectées dans la région de Ghazaouet (wilaya de Tlemcen). La raison qui est à la base du choix de ces espèces c'est qu'elles sont parmi les espèces les plus utilisés dans la médecine traditionnelle et dans les produits pharmaceutiques et les industries cosmétiques.

Le travail est structuré comme suit :

- Une synthèse bibliographique sur le stress oxydatif et antioxydants, les métabolites secondaires et les plantes étudiées.
- Le matériel et les méthodes utilisés.
- Résultats et discussion.

Notre travail s'achève par une conclusion.

*Synthèse*

*Bibliographique*

## I. Le stress oxydant

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydantes ou à une augmentation de production des radicaux libres (Orban, 2010).

## II. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique (Delattre *et al.*, 2005). Les espèces dites oxydantes peuvent être arbitrairement classées en espèces activées de l'oxygène et en espèces composées d'oxygène et d'azote ou de chlore (Vamecq *et al.*, 2004). Les sources principales de ces radicaux libres sont représentées dans le tableau suivant :

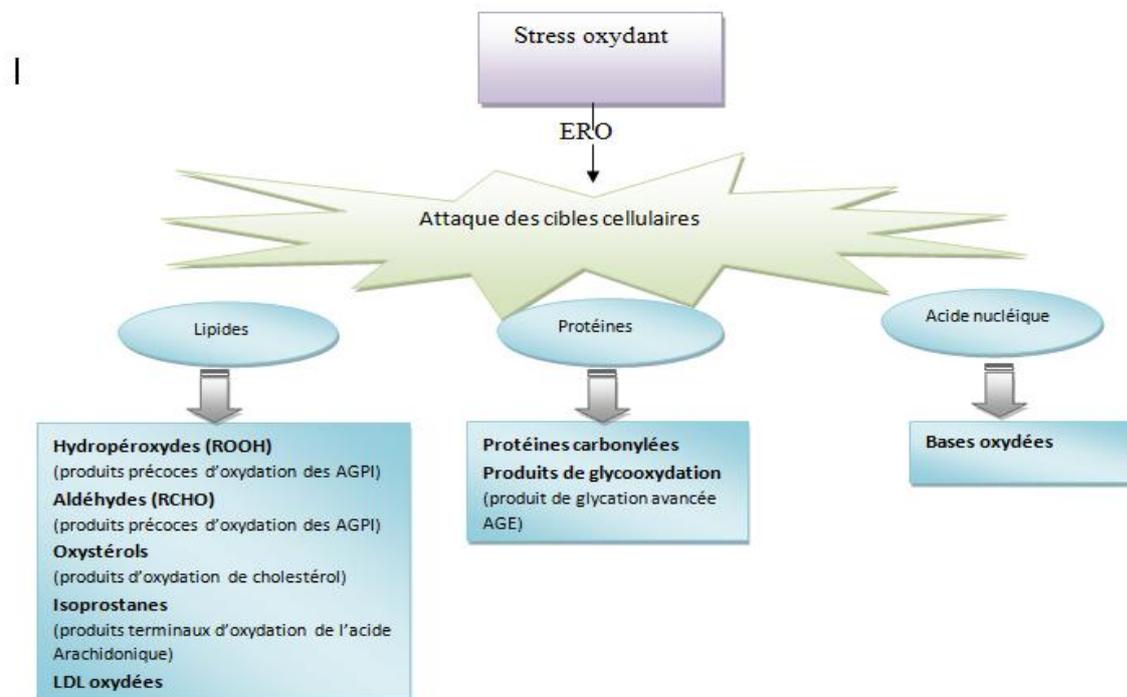
**Tableau 01** : principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes) (Delattre *et al.*, 2005).

Sources des radicaux libres	
Endogènes	Exogènes
– NADPH oxydase	– Toxiques environnementaux
– Chaîne respiratoire mitochondriale	– Radiations ionisantes
– Peroxysomes	– Radiations UV
– Cytochromes P450	– Champ électrique
– Xanthine oxydase	– Xénobiotiques pro-oxydants
– Cyclo-oxygénases	– Cytokines pro-inflammatoires
– Lipo-oxygénases	

Les oxyradicaux ou espèce radicalaire dérivées de l'oxygène peuvent avoir différentes structures dont les formules sont :  $O_2^{\cdot -}$  « radical superoxyde »,  $HO_2^{\cdot}$  « radical perhydroxyle »,  $\cdot OH$  « radical hydroxyle »,  $RO_2^{\cdot}$  « radical peroxyde »,  $RO^{\cdot}$  « radical alkoxyle ». Ces radicaux libres ne sont pas seulement l'apanage des phénomènes de stress oxydant. Ils peuvent être générés au cours du métabolisme normale de l'oxygène, mais, dans ce cas, en très faible quantité. Le radical superoxyde  $O_2^{\cdot -}$  (formé par transformation d'environ 2% de l'oxygène consommé), le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  (formé par régulation des radicaux superoxydes par les superoxydes dismutases) et le radical hydroxyle  $\cdot OH$  qui est le plus délétère du stress oxydant (formé au cours d'une réaction de Fenton en présence de cations métalliques comme  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$ ), sont encore appelés espèces

réactives de l'oxygène (ERO) car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ERO telles que les radicaux peroxydes  $RO_2\cdot$  (formés par attachement de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone, symbolisés par R), les hydroperoxydes  $RO_2H$  (provenant de l'oxydation d'un substrat RH) ainsi que les radicaux alkoxydes  $RO\cdot$  (issus de la décomposition des hydroperoxydes par des cations métalliques).

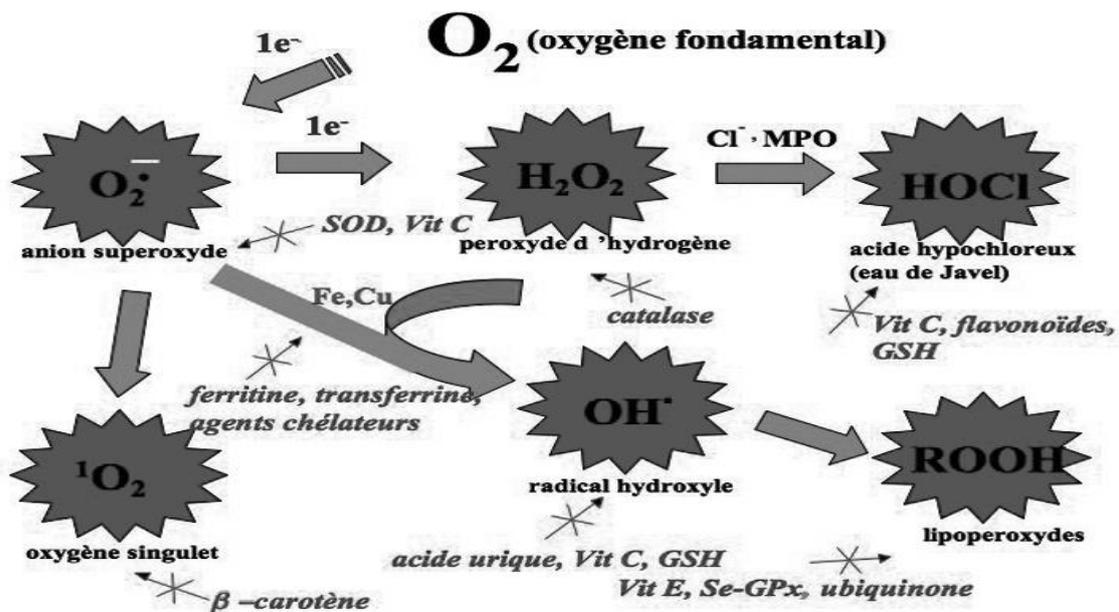
Au cours des phénomènes de stress oxydant, ces diverses entités radicalaires et moléculaires sont produites d'une manière accrue, ce qui se traduit par de nombreuses dégradations oxydatives au niveau des macromolécules biologiques telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides (**Figure 01**). Ces lésions oxydatives sont impliquées dans plusieurs pathologies (athérosclérose, diabète sucré, maladies neurodégénératives, maladies articulaires, cancer) ainsi que dans les processus de vieillissement (**Delattre et al., 2005**).



**Figure 01** : Schéma récapitulatif de l'effet des espèces réactives de l'oxygène sur leurs cibles  
(Durand, 2011)

### III. Les systèmes antioxydants

Les antioxydants sont toutes substances capables de prévenir ou retarder l'oxydation d'autres molécules (**Figure 02**) (**Orban, 2010**). On peut diviser les molécules antioxydantes en 2 catégories distinctes. Celles provenant d'une source endogène, produites directement par le corps humain et celles provenant d'une source exogène, apportées par l'alimentation.



**Figure 02** : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng *et al.*, 2007).

### III.1. Les systèmes antioxydants endogènes

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficace contre la production des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Delattre *et al.*, 2005).

#### III.1.1. Systèmes de défense enzymatiques

##### III.1.1.1. Les superoxyde dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines assurent l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot -}$  en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Delattre *et al.*, 2005).

##### III.1.1.2. Les glutathion peroxydases (GPxs)

Ces sélénoprotéines réduisent les peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Delattre *et al.*, 2005).

##### III.1.1.3. Le système thiorédoxine

Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng *et al.*, 2007).

#### III.1.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques présents dans l'organisme humain comprennent le glutathion (un tripeptide à pouvoir réducteur), bilirubine (capable de piéger des radicaux peroxy et l'oxygène singulet), les hormones sexuelles (œstrogènes capables d'inhiber la peroxydation lipidique), l'acide urique (un piègeur puissant de radicaux  $^{\cdot}OH$ ,  $RO_2^{\cdot}$ , d'oxygène

singulet et de  $\text{NO}^2$ ), le coenzyme  $\text{Q}_{10}$  (un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E)(Delattre *et al.*, 2005 ; Haleng *et al.*,2007).

### III.2. Les systèmes antioxydants exogène

La composition de notre alimentation joue un rôle primordial dans notre capacité à nous défendre contre la production non contrôlée des espèces radicalaires de l'oxygène. Les principaux antioxydants d'origine nutritionnelle sont (Delattre *et al.*, 2005 ; Haleng *et al.*,2007) :

#### III.2.1. Micronutriments antioxydants

Vitamine E « tocophérols et tocotriénols » (capable de piéger l'oxygène singulet et de réagir avec le radical hydroxyle et avec les radicaux peroxydes), Vitamine C (un piègeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène singulet), Caroténoïdes (puissants antiradicalaires par désactivation de l'oxygène singulet et des radicaux peroxydes et alkyles), Cuivre et Zinc (le cofacteur d'enzymes comme la SOD), Sélénium (rôle antiradicalaire), Vitamines B (rôle complémentaire des micronutriments antioxydants).

#### III.2.2. Microconstituants antioxydants

##### III.2.2.1. Polyphénols

Les polyphénols végétaux attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices. Les polyphénols ont une activité antioxydante importante, plus élevée par exemple que celle de la vitamine E (Delattre *et al.*, 2005).

##### III.2.2.2. Sulfures d'allyle

Ces composés soufrés de l'ail ont des propriétés antioxydantes. Leur action s'exerce par piégeage des ERO par augmentation des activités de SOD, catalase, glutathion peroxydase et glutathion dans la cellule (Borek, 2001).

### IV. Méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydants

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour évaluer les activités antioxydantes dans des produits alimentaires ou des systèmes biologiques. Parmi lesquelles, nous citons :

#### IV.1. La méthode DPPH<sup>•</sup>

Le test au radical libre DPPH<sup>•</sup> est recommandé pour des composés contenant les groupes SH, NH et OH. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Ce test est largement utilisé pour déterminer

l'activité antiradicalaire et antioxydante des composés phénoliques purifiés ainsi que des extraits végétaux. Dans cette analyse, le DPPH<sup>•</sup>, de couleur pourpre, est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante. En opposition à ce qui a été toujours crue, le mécanisme de réaction est basé sur une réaction de transfert d'électron, tandis que l'abstraction d'atome d'hydrogène est un processus réactionnel marginal, parce qu'elle se produit lentement dans des solvants forts, tels que le méthanol et l'éthanol (Foti *et al.*, 2004).

#### IV.2. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du béta-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du béta-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de la décoloration du béta-carotène (Koleva *et al.*, 2001).

#### IV.3. Méthode de la réduction de Fer

C'est le test de l'activité réductrice sur le ferricyanure de potassium. Il est basé sur la capacité des phénols à réduire  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$ . La réduction est accompagnée par la formation de complexes colorés avec le fer réduit. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Agbodan *et al.*, 2014).

#### IV.4. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode FRAP consiste à mesurer la capacité d'un échantillon à réduire le complexe ferrique tripyridyltriazine au tripyridyltriazine à un faible pH. Ce complexe de tripyridyltriazine ferreux à une couleur bleu intense mesuré par un spectrophotomètre à 593 nm (Cheurfa et Allem, 2016).

#### IV.5. Méthode de FTC (Ferric thiocyanate method)

Cette méthode est basée sur l'oxydation de l'acide linoléique qui génère la formation de peroxyde qui oxyde  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$ . Ces derniers ions forment un complexe avec le thiocyanate mesuré à une absorbance maximale de 500 nm (Gülçin, 2007).

#### IV.6. La capacité anti-oxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

Cette méthode est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés

antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à un pH acide (**Damiki et Alakh, 2010**).

#### IV.7. La méthode TEAC

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox<sup>®</sup> (acide 6- hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (**Marc, 2004**).

#### IV.8. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

La méthode ORAC a été développée par l'équipe de **Cao et al. (1993)**. Elle consiste à mesurer l'effet inhibiteur des antioxydants sur un radical libre (radical peroxy) couplé à une protéine fluorescente, la  $\beta$ -PE ( $\beta$  Phycoérythrine), qui est une protéine fluorescente extrêmement sensible au stress oxydatif. La dimérisation de la  $\beta$ -PE, en présence du radical, peut être suivie en mesurant la décroissance de la fluorescence de la  $\beta$ -PE en fonction du temps, qui est directement reliée à la concentration de radicaux libres présents dans le volume réactionnel. Cependant, la  $\beta$ -PE n'étant pas constante d'un lot à l'autre, la méthode fût améliorée en 2001 grâce à l'utilisation de la fluorescéine (**Ou et al., 2002**). Une méthode limitée à l'origine à l'évaluation des composés hydrophiles seulement (**Prior et al., 2005**), puis adaptée les composés lipophiles (**Huang et al., 2005**).

Les végétaux produisent des substances chimiques de structures variées comme les métabolites primaires et secondaires (Edeas *et al.*, 2007). Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, terpènes, les alcaloïdes) qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents la pharmacologie ou l'agroalimentaires (Macheix *et al.*, 2005).

## I. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques naturels regroupent plus de 8000 substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth, 1999).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, le thé, le café, les jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (Macheix *et al.*, 2005).

### I.1. Classifications des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 02).

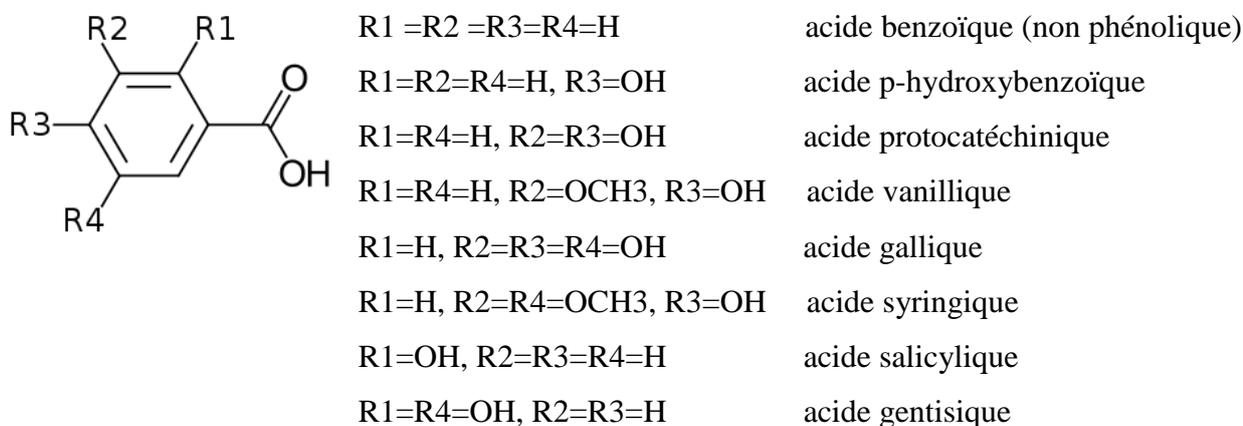
**Tableau 02** : les principales classes de composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides Hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides Hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme, Pomme de terre
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul>	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélagonidine Catéchine, épicatechines Naringénine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Diadzéine	Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bios, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### I.1.1. Acides phénoliques

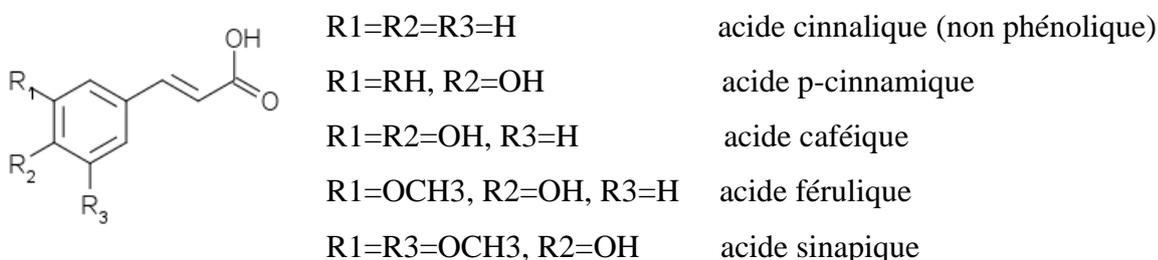
Ils sont divisés en deux classes :

Les dérivés de l'acides hydroxybenzoïques (**Figure 03**) : sont composés d'un noyau benzénique et présentent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (**Chira, 2008**).



**Figure 03** : Dérivés d'acide hydroxybenzoïque (**Macheix et al., 2005**).

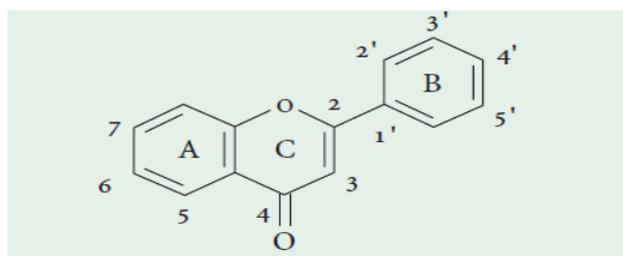
Les dérivés de l'acide hydroxycinnamiques (**Figure 04**) : représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique l'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caférique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxylé, et enfin l'acide sinapique (**Macheix et al., 2005**).



**Figure 04** : Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques (**Macheix et al., 2005**).

### I.1.2. Les flavonoïdes

Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havsteen, 2002**). Ils dérivent de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone (**Figure 05**) et peuvent être classés selon la nature des différents substituant présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation (**Erlund, 2004**).



**Figure 05 :** Structures de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone.

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïdes (Erlund, 2004 ; Ghedira, 2005).

Selon la nature de l'hétérocycle C, on distingue :

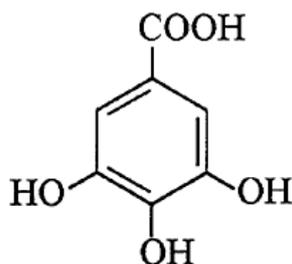
- les flavones et les flavonols, sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine
- les flavanones (naringénine), les flavanols (catéchine) et les dihydroflavanols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol), sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques) (Havsteen, 2002).

### I.1.3. Les tanins

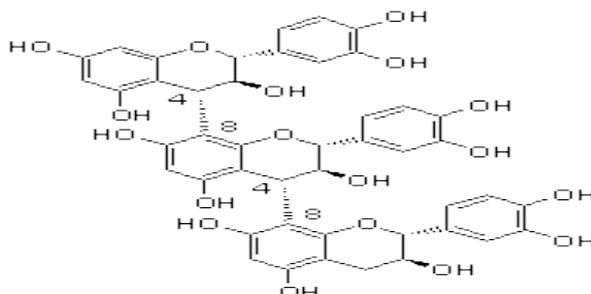
Ce sont des composés phénoliques capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (Silanikove *et al.*, 2001). Leur poids moléculaire est compris entre 5000 et 30000 Daltons. Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins :

**I.1.3.1. Tanins hydrolysables :** qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotanins soit l'acide éllagique dans le cas des tanins classiquement dénommés éllagitanins (Bruneton, 2009), (Figure 06).



**Figure 06 :** Structure chimiques de l'acide gallique (Bruneton, 2009).

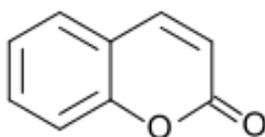
**I.1.3.2. Tanins condensés :** qui se diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constituées d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone- carbone (**Bruneton, 2009**), (**Figure 07**).



**Figure 07 :** Structure chimique des tanins condensés (**Bruneton, 2009**).

#### I.1.4. Les coumarines

Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques constituées de neuf atomes de carbone caractérisées par le noyau 2H-1- benzopyrane-2-one (**Figure 08**). Les coumarines, très largement distribuées dans le règne végétal, ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Mpondo et al., 2015**).



**Figure 08 :** Structure des coumarines (**Richter, 1993**)

#### I.1.5. Les lignines

Bien que la lignine représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux, la deuxième après la cellulose, elle est rattachée aux composés phénoliques en raison de sa structure chimique et des voies de biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes (**Edeas et al., 2007**).

#### I.2. Rôle antioxydant des polyphénols

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans nos régimes alimentaires, d'où l'effet protecteur des fruits et légumes. Ils possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...) (**Middleton et al., 2000**). Ils renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant et préviendraient ainsi

diverses maladies chroniques, telles que les cancers et les maladies cardio-vasculaires. (Gee JM et Johnson, 2001).

## II. Les Terpènes

Ce sont des molécules hydrocarbonées produites particulièrement au niveau des organes foliaires. Les différentes voies métaboliques dont ils sont issus sont la glycolyse, le cycle de Krebs et la voie du shikimate, ainsi que la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) (Soualeh et Soulimani, 2016). L'unité de base des terpènes est l'isoprène en cinq carbones (Figure 09). On trouve, selon le nombre de cette unité, les monoterpènes  $C_{10}$  (2 unités), les sesquiterpènes  $C_{15}$  (3 unités), les diterpènes  $C_{20}$  (4 unités), les sesterpènes  $C_{25}$  (5 unités), les triterpènes et stéroïdes  $C_{30}$  (6 unités), les tetraterpènes  $C_{40}$  (8 unités) et les polyterpènes  $(C_{10})_n$  avec  $n > 8$  (Richter, 1993).

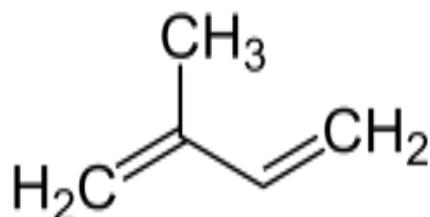


Figure 09 : Structure d'isoprène

Les terpénoïdes ont des activités biologiques et pharmacologiques variées : anti-inflammatoire, antivirus, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (bisoli *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).

## III. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont d'origine naturelle, le plus souvent végétale. Ce sont des substances organiques azotés et basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées. A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tratrates, maliates,....) ou combinés à des tanins (Bruneton, 2009).

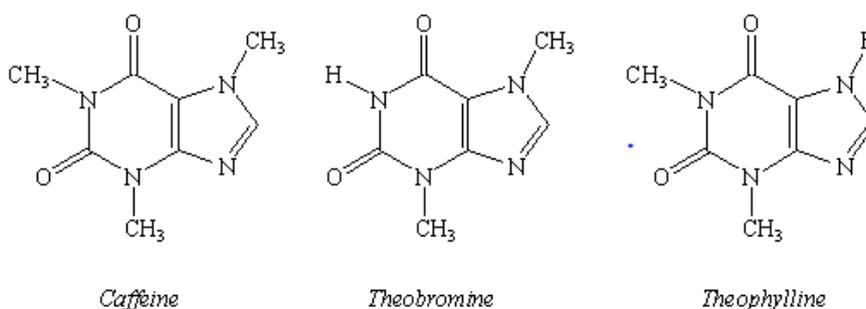


Figure 10 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Bruneton, 2009).

D'un point de vue biologique, les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne, anticancéreuse... (Bruneton, 2009 ; Hocquemiller *et al.*, 1982).

Les plantes médicinales constituent un réservoir important de substances naturelles pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques. Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à des espèces appartenant au genre *Lavandula* de la famille des Lamiacées qui sont : *L. stoechas*, *L. dentata* et *L. multifida* L. Dans ce chapitre, nous détaillons leurs : descriptions botaniques, répartitions géographiques, compositions chimiques et propriétés thérapeutiques.

### I. Description botanique et répartition géographique

Les lavandes sont des herbes annuelles ou le plus souvent des arbustes ligneux, aromatiques, touffus et vivaces hauts de 40 à 80 cm à feuilles persistantes opposées qui peuvent être entières ou dentées. Les fleurs sont organisées en une inflorescence mixte, un caractère commun à l'ensemble des lavandes. L'inflorescence principale ressemble donc à un épi plus ou moins lâche. L'inflorescence secondaire est une cyme. Les bractées sont situées à la base de chaque cyme. Le fruit est un tétrachène. Une abondante floraison bleu violet clair est observée en saison printanière. La corolle monopétale est renversée, à tube plus long que calice et à limbe partagé en cinq lobes inégaux, arrondis, imparfaitement divisés en deux lèvres (**Quezel et Santa, 1963**).

#### I.1. *Lavandula dentata*

Feuilles linéaires à oblongues, à marge dentées, crénelées ou pectinées, grisâtres en dessous, vert en dessus (**Photo 01**) (**Lippert et Podlech, 2005**). Tiges florifères longuement dénudées sous les épis. Fleurs et bractées bleuâtres (**Photo 02**). Habite les garrigues, les lieux secs et les sols siliceux (**Quezel et Santa, 1963**).

**Distribution** : Espagne, nord-ouest de l'Afrique (**Lippert et Podlech, 2005**).

**Noms vernaculaires** : Amezzour, Djaida جعيدة, Laizir ليازير, Helhal حلال (**Trabut, 2006**).



**Photo 01** : Feuilles de *L. dentata*. (**Tela-botanica**) **Photo 02** : Fleurs de *L. dentata* (**Tela-botanica**)

### I.2. *Lavandula multifida*

Fleurs de 7-8 mm de long, violacées (**Photo 04**). Epis ne dépassant guère 3 cm. Feuilles au contour ovale (**Photo 03**), faux verticilles de 2 fleurs seulement. Se rencontre dans les rocailles, les pâturages et matorrals, sur les substrats calcaires et siliceux et les sols superficiels (**Quezel et Santa, 1963**).

**Distribution** : Ouest du bassin méditerranéen jusqu'en Italie (**Lippert et Podlech, 2005**).

**Noms vernaculaires** : Iggiz, Iggir, Djei T, Arssfa T, Dhada, Kammoun el Djemel كمون الجمل, Khou helhal خوالحلحال, Kerouiet el djemel كروية الجمل, Saraqtoum سارفتون (**Trabut, 2006**).



**Photo 03** : Feuilles de *L. multifida* (Tela-botanica) **Photo 04** : Fleurs de *L. multifida* (Tela-botanica)

### I.3. *Lavandula stoechas*

Feuilles linaires opposées de 1-4 cm de long, à marge enroulée, tomenteuses et grises sur les 2 faces (**Photo 05**). Fleurs groupées par 6-10 en faux verticilles quadrangulaires, très serrés de 2-3 cm de large, formant de faux épis terminaux. Bractées rhomboïdales-spatulées de 4-8 mm de long, violet brunâtre (**Photo 06**) ; les plus hautes, stériles, sont nettement plus grosses (1-5cm de long) et bleu-violet. Calice tubuleux de 4-6 mm de long à 13 nervures et 5 dents, la dent supérieure étant terminée par un appendice élargi. Corolle violette foncée de 6-8 mm de long, vaguement bilabée, à 5 lobes 4 étamines 2 courtes et 2 longues habite emplacement secs, alpages rocailleux non calcaire (**Lippert et Podlech, 2005**).

**Distribution** : Presque tout le bassin méditerranéen (**Lippert et Podlech, 2005**).

**Noms vernaculaires** : Amezzir, Imzir, Iazir, Hamsdir, Tizrit, Estakhoudes, Halhal حلحال , Meharga محروقة , Helhal el djebel حلحال الجبل (**Trabut, 2006**).



**Photo 05 :** Feuilles *L. stoechas* (Tela-botanica) **Photo 06 :** Fleurs *L. stoechas* (tela-botanica)

## II. Classification (Dupont et Guiguard, 2007)

<b>Embranchement :</b>	Spermatophytes
<b>Sous Embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Eudicots
<b>Sous Classe :</b>	Asteridées
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiaceae
<b>Genre :</b>	<i>Lavandula</i>
<b>Espèces :</b>	<i>L. multifida</i> - <i>L. dentata</i> - <i>L. stoechas</i>

## III. Composition chimique

Les lavandes sont des petits arbustes aromatiques cultivés dans le monde entier pour leurs huiles essentielles, mélange de mono et sesquiterpènes, alcools, des esters, des oxydes et cétones. Une étude phytochimique sur les trois espèces de *lavandula*, *L. dentata*, *L. multifida* et *L. stoechas*, a montré l'abondance des polyphénols y compris les tanins et les flavonoïdes, ainsi que des terpénoïdes (Dif *et al.*, 2016).

## IV. Les propriétés thérapeutiques

La lavande est considérée comme une plante médicinale. Elle est utilisée pour soigner des plaies et brûlures superficielles et présente des effets sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépresseurs et anti-inflammatoires (Cavanagh, 2002).

*Lavandula multifida* est souvent utilisée pour traiter les rhumatismes, la grippe et a une activité hypoglycémisante et des propriétés anti-inflammatoires (El-Hilaly *et al.*, 2003 ; Sosa *et al.*, 2005). *Lavandula stoecha* est une espèce appliquée pour traiter l'épilepsie et maux de tête et a des propriétés antimicrobienne, analgésique, antiseptique, antispasmodique (Ulubelen *et al.*, 1988) (Ulubelen et Olcay, 1989). *Lavandula dentata* possède des propriétés carminatives et nerveuses. Ses huiles essentielles ont été employées comme tonique contre les vertiges, le tremblement nerveux, la faiblesse, Spasmes et coliques (Dif *et al.*, 2016).

*Matériel et*

*Méthodes*

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire des produits naturels (LAPRONA), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

### **I. Matériel végétal**

*Lavandula dentata*, *Lavandula stoechas* et *lavandula multifida*, ont été récoltées au mois de février 2017 dans la région de Ghazaouet, wilaya de Tlemcen (Le Nord-Ouest de l'Algérie). Après leur identification, les feuilles et les fleurs, de chaque plante, sont séparés et séchés dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires. Les échantillons sont transformés en poudre à l'aide d'un moulin électrique.

### **II. Préparation des extraits hydro-méthanoliques**

La préparation des extraits hydro-méthanoliques a été effectuée par une macération pendant 24 heures de 5g de la poudre de plante dans 100 ml de méthanol-eau (70-30). Après filtration, les extraits ont été évaporés à 45°C sous pression réduite.

On a déterminé le rendement (Rdt) des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt \%} = \frac{P1-P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids du ballon après évaporation, P2 : Poids du ballon vide, P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ.

Les extraits secs sont repris dans quelques millilitres de méthanol pour les dosages et les évaluations de l'activité antioxydante. Ils ont été conservés à 4°C pour une utilisation ultérieure.

### **III. Tests phytochimiques des flavonoïdes et des tanins**

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration, turbidité ou de précipitations, utilisant les techniques méthodes décrites dans la littérature (**Paris et al., 1969**).

#### **III.1. Détection des flavonoïdes**

10 gouttes de l'acide chlorhydrique (HCl) concentré et quelque milligramme de tournures de magnésium sont ajoutés à 0.5 ml de chaque extrait. La coloration rose rouge ou jaune, après 3min d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes.

#### **III.2. Détection des tanins**

8 gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1% sont ajoutées dans 0.5ml de chaque 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 gallique.

#### IV. Quantification des polyphénols totaux dans les extraits

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et de l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la DO observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Boizat *et al.*, 2006).

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par Vermerris *et al.* (2006) : Une prise de 100  $\mu$ l de l'extrait est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm. Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 400  $\mu$ g/ml. Les teneurs en polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mgEAG/gMS) et en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/g extrait).

#### V. Estimation de l'activité antioxydante

##### V.1. Piégeage du radical DPPH $^{\bullet}$

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante, est un radical stable qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (Bozin *et al.*, 2008). La méthode au DPPH $^{\bullet}$  présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH $^{\bullet}$  (diphényl picrylhydrazyle) ayant une couleur violette en un composé jaune, le DPPH-H (diphényl picryl-hydrazine) (Figure 11), dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans le milieu.

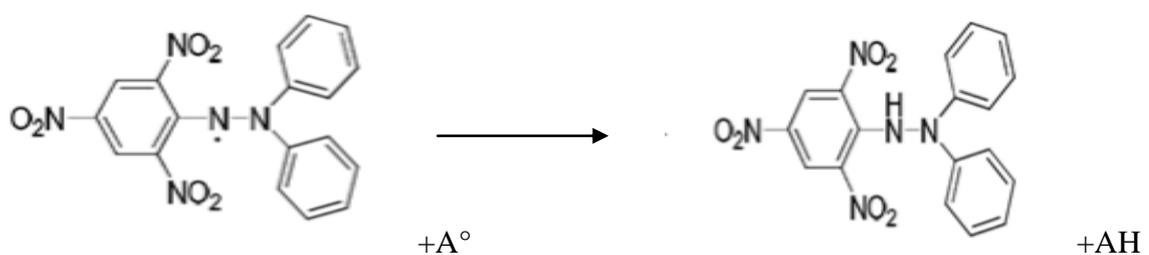


Figure 11 : Forme réduite du radical DPPH $^{\bullet}$

Le protocole expérimental suivi est celui de **Chaouche *et al.* (2015)** : 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml) sont ajoutés à 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH<sup>\*</sup> à  $6.34 \times 10^{-5}$  M (0,0025g dans 100 ml méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. Un contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 50 µL du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanoliques de DPPH<sup>\*</sup> à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances a été effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Comme témoin positif on a utilisé le butylhydroxyanisole (BHA), à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI} = (\text{DO témoin} - \text{DO extrait} / \text{DO témoin}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition, DO témoin : absorbance du témoin négatif, DO extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>). Une faible valeur de CI<sub>50</sub> correspond à une grande efficacité de l'extrait.

## **V.2. Pouvoir réducteur du fer**

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer (**Huang *et al.*, 2005**). Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Chaouche *et al.* (2015)** basée sur la réaction chimique de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fe<sup>2+</sup>.

Cette méthode consiste à mélanger 200 µl de l'extrait à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml) avec 500 µl de tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 500 µl d'une solution de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 mn à 50°C, puis 500 µl d'acide trichloracétique TCA à 10% (m/v) sont ajoutés pour arrêter la réaction. 1,7 ml d'eau distillée et 200 µl de FeCl<sub>3</sub> à 0.1% (m/v) sont ajoutés au mélange. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace (CE<sub>50</sub>), concentration de l'extrait correspondante à une absorbance égale à 0.5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire (D.O = f ([ ])). L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle de témoins positifs qui est l'acide ascorbique (vitamine C), utilisé à différentes concentrations (0 à 500 µg/ml)

*Résultats et  
interprétations*

### I. Les rendements en extraits hydro-méthanoliques

Les extraits ont été préparé par une macération pendant 24 heures dans le méthanol-eau (70/30) et les rendements en extraits secs sont représentés dans le **Tableau 03**.

**Tableau 03** : Les rendements obtenus à partir des deux parties des plantes étudiées.

	Les plantes	Rendements (%)	Aspects
Feuilles	<i>L. dentata</i>	21,52	Poudre
	<i>L. multifida</i>	12	
	<i>L. stoechas</i>	18,69	
Fleurs	<i>L. dentata</i>	14,96	Visqueux
	<i>L. multifida</i>	10,76	
	<i>L. stoechas</i>	15,54	

Les résultats d'extraction obtenus montrent que les extraits hydro-méthanolique des feuilles donnent les meilleurs rendements par rapport aux fleurs de chaque plante. L'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *L. dentata* donne le rendement le plus élevé (21,52%), suivi par celui des feuilles de *L. stoecha* (18,69%). Les rendements en extraits hydro-méthanolique des feuilles et des fleurs de *L. multifida* sont faibles par rapport aux autres espèces.

### II. Les tests phytochimique

Nous avons réalisé des teste phytochimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration pour mettre en évidence la présence ou l'absence de deux familles de composés appartenant aux polyphénols. Il s'agit des flavonoïdes et des tanins. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 04**.

**Tableau 04** : Résultats des tests phytochimiques

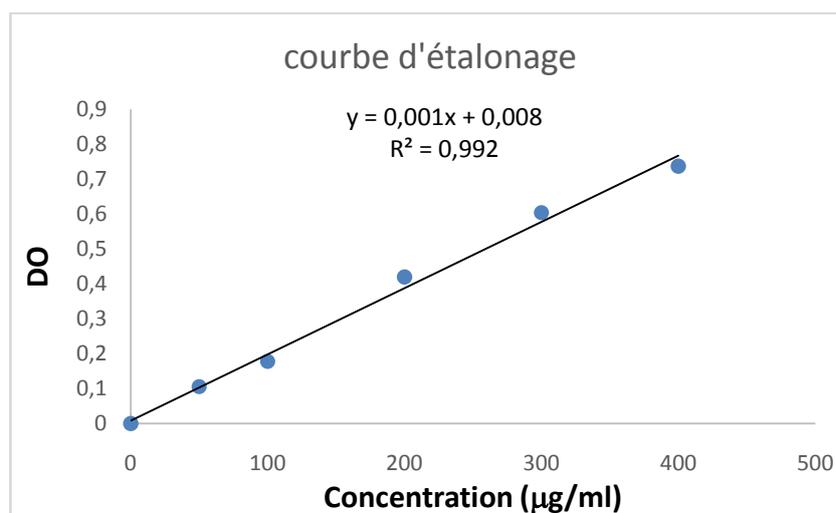
	Plantes	Flavonoïdes		Tanins	
		Intensité	Couleur	Intensité	Couleur
Feuilles	<i>L. dentata</i>	++	Jaune	+++	Vert
	<i>L. multifida</i>	++	Jaune	+++	Bleu-noir
	<i>L. stoechas</i>	+	Jaune	++	Vert
Fleurs	<i>L. dentata</i>	+	Jaune	++	Vert
	<i>L. multifida</i>	+	Jaune	+++	Vert
	<i>L. stoechas</i>	+	Jaune	+++	Vert

*Faiblement présent : + ; moyennement présent : ++ ; fortement présent : +++*

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits des deux parties, feuilles et fleurs de chaque plante étudiée, ont révélé la présence des tanins et des flavonoïdes dans tous les extraits avec des intensités variables. Pour les flavonoïdes, les extraits les plus riches sont ceux des feuilles de *L. dentata* et *L. multifida*, avec des intensités moyennes. Ces tests révèlent aussi que tous les extraits contiennent des tanins catéchiques avec des intensités moyennes à fortes, sauf l'extrait des feuilles de *L. multifida* qui contient des tanins gallique avec une couleur Bleue-noire très intense.

### III. Teneurs en polyphénols totaux

L'estimation des teneurs en polyphénole totaux a été effectuée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg GAE/g MS) (**Tableau 05**), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique ( $y = 0.0019x - 0.0087$ ,  $r^2 = 0.9928$ ) (**Figure 12**).



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

**Tableau 05** : Teneurs en phénols totaux dans les extraits hydrométhanoliques des plantes étudiées exprimée en (mg EAG/g MS) et en (mg EAG/g extrait).

	Plantes	Polyphénols (mg EAG/g extrait)	Polyphénols (mg EAG/g MS)
Feuilles	<i>L. dentata</i>	73,44	15.81
	<i>L. multifida</i>	192	23.01
	<i>L. stoechas</i>	95,18	18.05
Fleurs	<i>L. dentata</i>	109,79	16.42
	<i>L. multifida</i>	73,26	7.88
	<i>L. stoechas</i>	114,68	17.82

A partir des résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variées en polyphénols dans les différents extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées. La teneur la plus élevée a été enregistrée pour l'extrait des feuilles de *L. multifida* (23.01 mg EAG/g MS). Des teneurs importantes ont été observées dans les extraits des feuilles de *L. stoechas* (18.05 mg EAG/g MS), *L. dentata* (15.81 mg EAG/g MS) et dans les extraits des fleurs de *L. stoechas* (17.82 mg EAG/g MS) et *L. dentata* (16.42 mg EAG/g MS). L'extrait des fleurs de *L. multifida* présente une teneur en polyphénols moins importante (7.88 mg EAG/g MS).

#### IV. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de nos plantes a été déterminée par deux méthodes, *in vitro* : le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> et la réduction de fer.

##### IV1. Piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup>

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520nm (Bozinet *al.*, 2008).

Les résultats obtenus pour le contrôle positif, le BHA (Figure 13) et pour les extraits (Figures 14, 15, 16, 17, 18, 19) sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH<sup>•</sup> en fonction des concentrations en extraits.

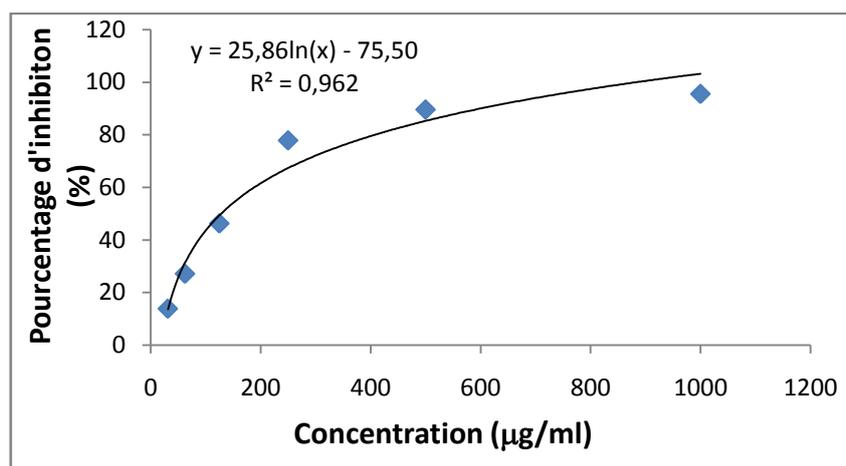


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de contrôle positif BHA.

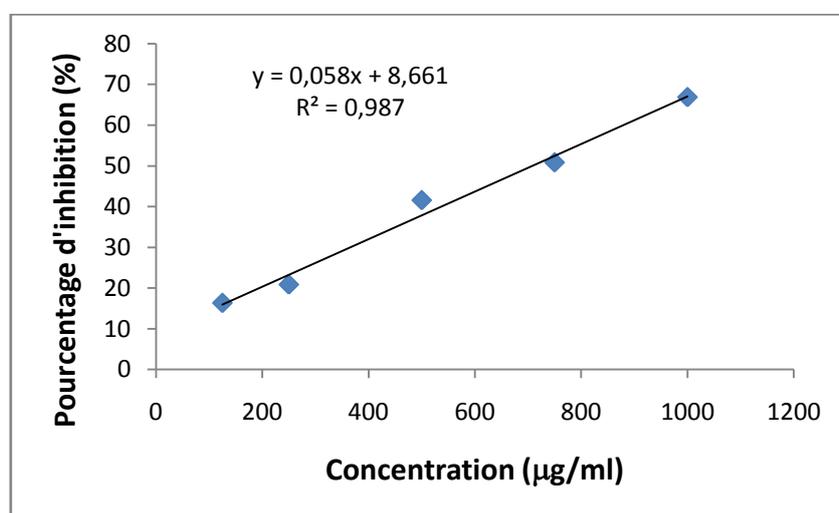


Figure 14 : Pourcentages d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles de *L. dentata*.

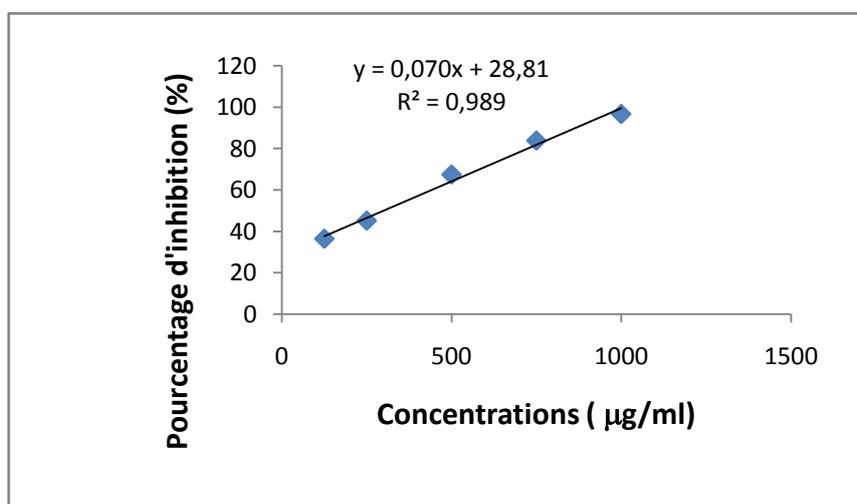


Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles de *L. multifida*.

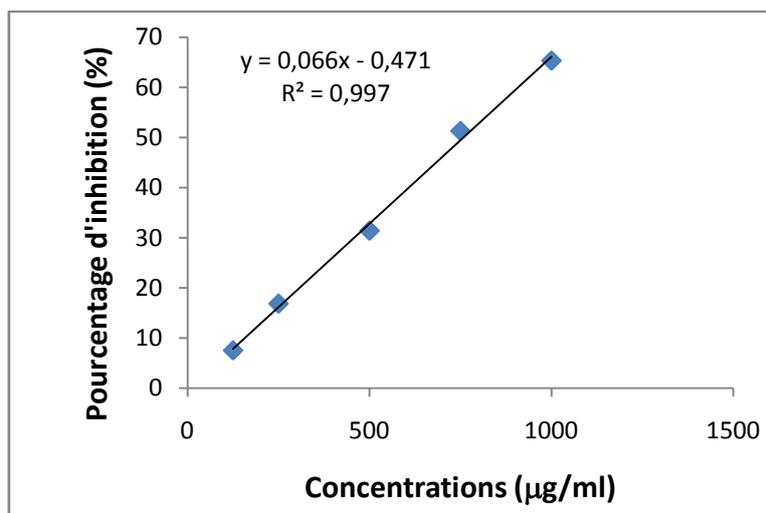


Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles de *L. stoechas*.

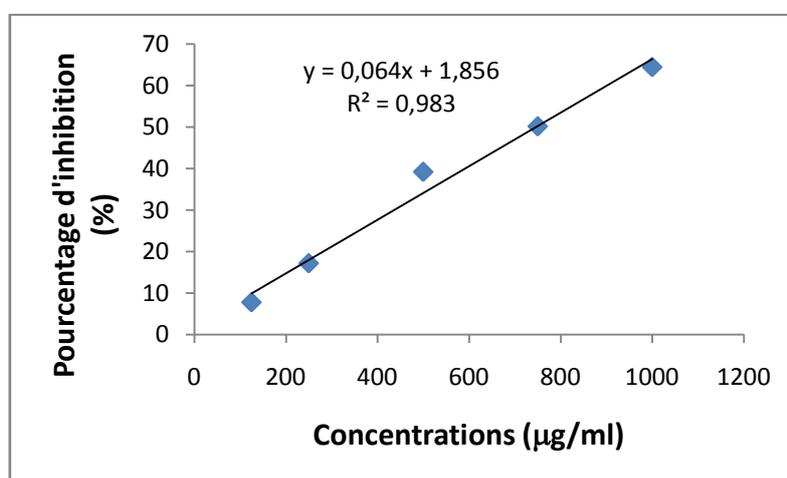


Figure 17 : Pourcentages d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de l'extrait des fleurs de *L. dentata*.

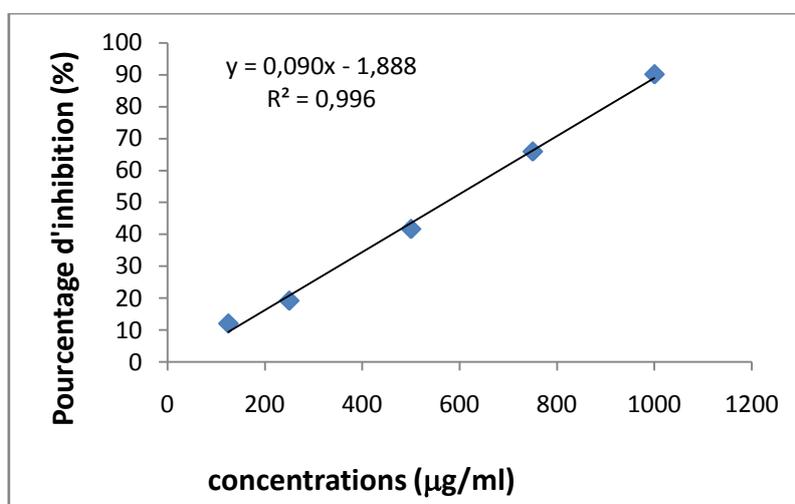
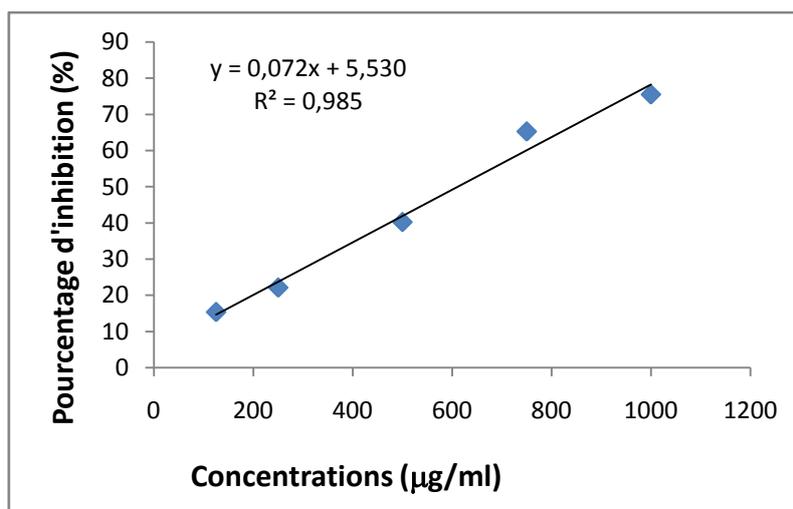


Figure 18 : Pourcentages d'inhibition du DPPH<sup>\*</sup> en fonction des concentrations de l'extrait des fleurs de *L. multifida*.



**Figure 19** : Pourcentages d'inhibition du DPPH\* en fonction des concentrations de l'extrait des fleurs de *L. stoechas*.

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'inhibition augmentent en fonction de la concentration en extraits. Les meilleurs pourcentages d'inhibitions sont obtenus pour les extraits des feuilles et des fleurs de *L. multifida*, 96,66% et 90,18% respectivement, à une concentration de 1000 µg/ml. Les extraits de *L. stoechas* et de *L. dentata* ont des pourcentages d'inhibition intéressants et qui sont compris entre 64.39% et 75.45%, à cette même concentration.

#### ➤ Calcul des CI<sub>50</sub>

Le pouvoir antioxydant des différents extraits a été déterminé à partir de la concentration inhibitrice **CI<sub>50</sub>** (**Tableau 06**). C'est la concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH\*. Plus sa valeur est petite, plus l'activité est grande.

A des fins comparatives, le BHA qui est un antioxydant standard, a une activité antiradicalaire importante avec une valeur de CI<sub>50</sub> de 128 µg/ml.

**Tableau 06** : Les valeurs des CI<sub>50</sub> (µg/ml) calculées pour les extraits hydrométhanoliques étudiés.

	Extraits	CI <sub>50</sub> (µg/ml)
Feuilles	<i>L. dentata</i>	708
	<i>L. multifida</i>	<b>300</b>
	<i>L. stoechas</i>	758
Fleurs	<i>L. dentata</i>	746
	<i>L. multifida</i>	571
	<i>L. stoechas</i>	612
	BHT	128

D'après les valeurs d'CI<sub>50</sub>, le classement de la capacité des extraits à piéger le radical DPPH<sup>•</sup>, est le suivant :

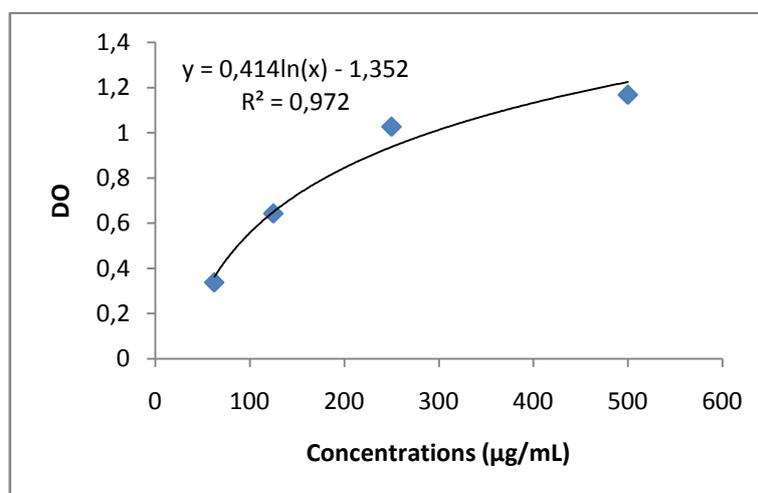
BHA > Feuilles de *L. multifida* > Fleurs de *L. multifida* > Fleurs de *L. stoechas* > Feuilles de *L. dentata*, Fleurs de *L. dentata*, Feuilles de *L. stoechas*.

Donc, les extraits des feuilles de *L. multifida* présente la meilleure activité antiradicalaire avec une valeur de CI<sub>50</sub> de 300 µg/ml, suivi par l'extrait des fleurs de cette même plante. Cette activité reste inférieure à celle de contrôle positif, le BHA.

#### IV2. Réduction de fer

Cette méthode est basée sur la capacité de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fe<sup>2+</sup>. Les résultats de pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des différents extraits hydrométhanoliques sont représentés dans les **Figure 20 ; 21 ; 22 ; 23 ; 24 ; 25 ; 26** qui représentent la capacité réductrice en fonction des concentrations en extraits. Cette capacité augmente en fonction de la concentration des extraits.

A une concentration de 1mg/ml on observe que l'extrait des feuilles de *L. multifida* a la DO la plus élevée (1,48).



**Figure 20** : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

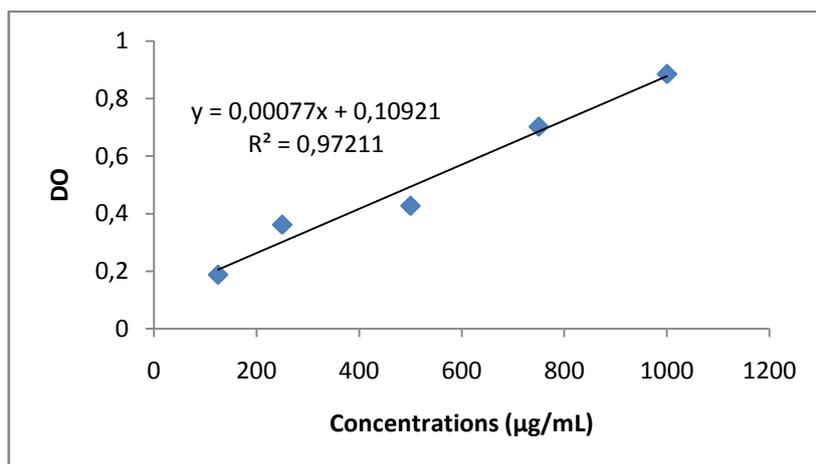


Figure 21 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *L. dentata*.

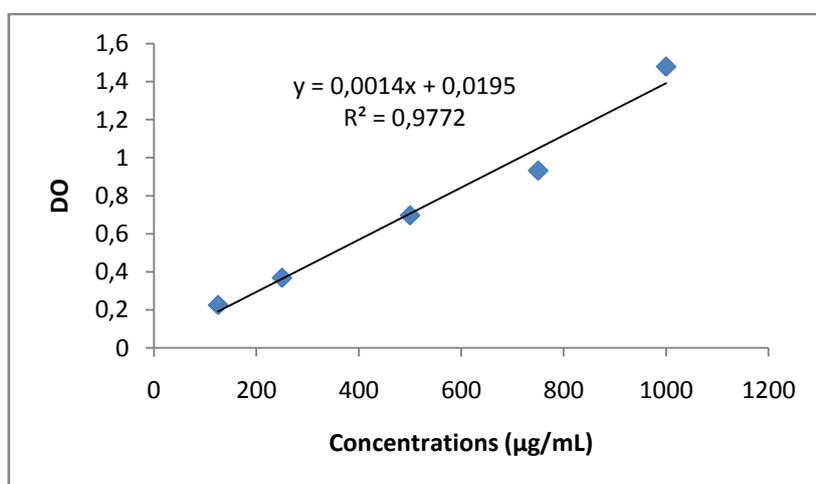


Figure 22 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *L. multifida*.

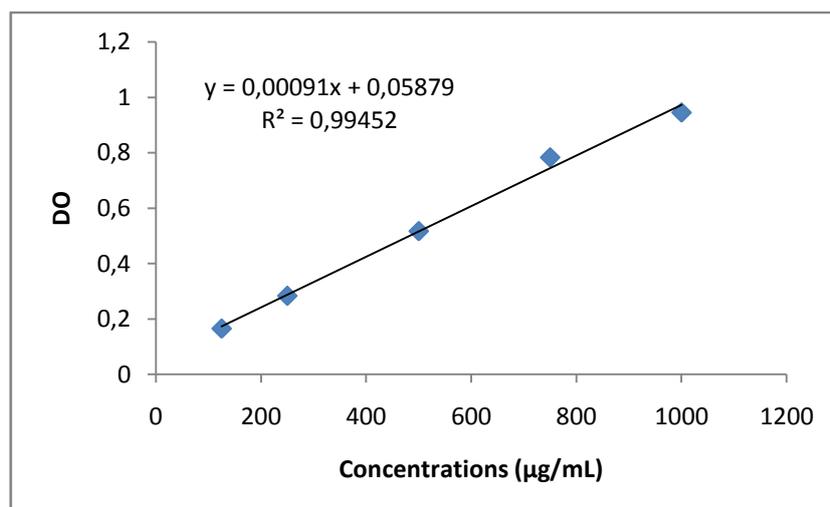


Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *L. stoechas*.

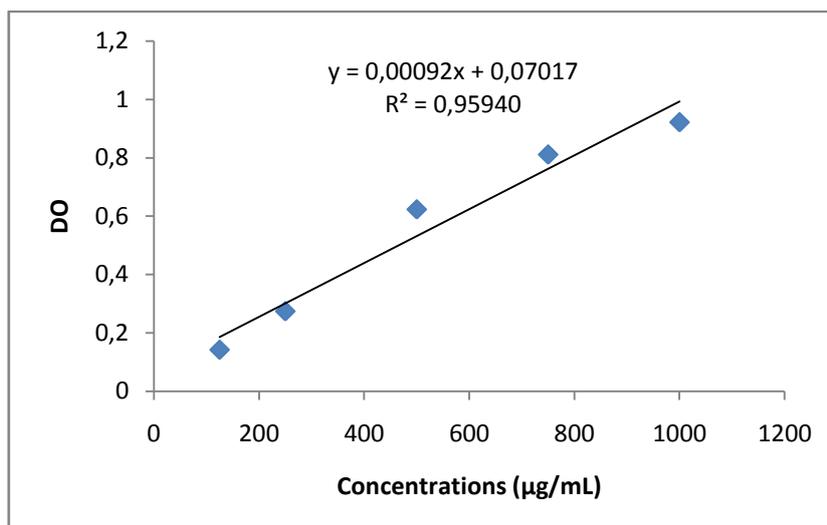


Figure 24 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de *L. dentata*.

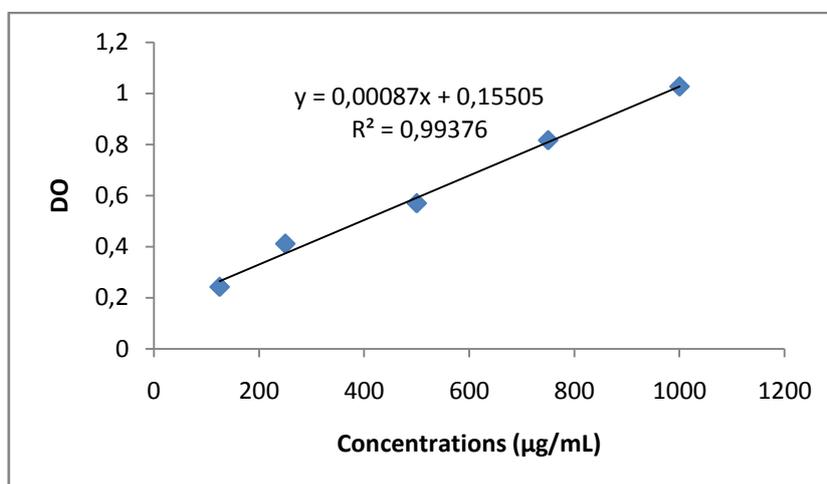


Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de *L. multifida*.

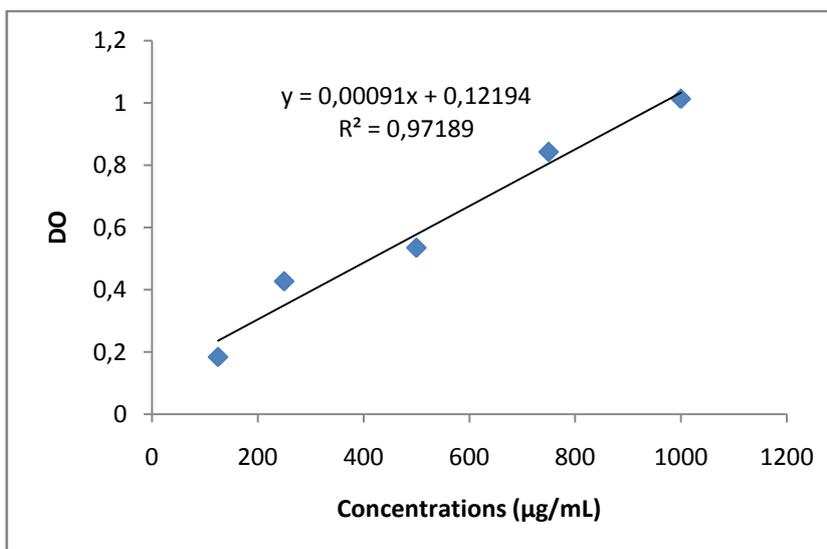


Figure 26 : Pouvoir réducteur de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de *L. stoechas*.

➤ Calcul des CE<sub>50</sub>

Les valeurs des densités optiques obtenues ont permis de calculer CE<sub>50</sub> de chaque extrait (**Tableau 07**). C'est la concentration à laquelle la DO est égale à 0.5. L'efficacité de la réduction de fer est inversement proportionnelle à la concentration CE<sub>50</sub>.

Pour des buts comparatifs, l'acide ascorbique utilisé comme un contrôle positif a une valeur de CE<sub>50</sub> égale à 87µg/ml.

**Tableau 07** : Les valeurs des CE<sub>50</sub> calculées pour les extraits hydrométhanoliques étudiés.

	Extraits	CE <sub>50</sub> (µg/ml)
Feuilles	<i>L. dentata</i>	508
	<i>L. multifida</i>	343
	<i>L. stoechas</i>	485
Fleurs	<i>L. dentata</i>	467
	<i>L. multifida</i>	396
	<i>L. stoechas</i>	415
	Acide ascorbique	87

A partir des résultats obtenus, nous remarquons que tous nos extraits ont des valeurs d'CE<sub>50</sub> supérieurs d'acide ascorbique, donc une activité inférieure.

Le classement de l'efficacité de la réduction de fer est le suivant :

L'acide ascorbique >feuille de *L. multifida*> fleurs de *L. multifida*> fleurs de *L. stoechas*>fleurs de *L. dentata*> feuilles *L. stoechas*>feuilles de *L. dentata*.

Les concentrations de CE<sub>50</sub> les plus faibles sont signalées dans les extraits de *L. multifida* feuilles (343µg/ml) et fleurs (396µg/ml). Donc c'est la plante la plus active. Cette activité reste largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. Pour les autres plantes, les valeurs de CE<sub>50</sub> sont comprises entre 415 et 508 (µg/ml).

# *Discussion*

Notre travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante des trois plantes aromatiques du genre *Lavandula*. Les rendements en extraits hydrométhanoliques, obtenus par macération des feuilles et des fleurs dans le méthanol-eau sont différents de ceux trouvés dans deux travaux antérieurs, une faite sur les extraits aqueux et éthanoliques de *L. multifida* et *L. stoechas* (**Bouharb et al., 2014**) et l'autre sur les extraits aqueux brut de *L. dentata* et *L. stoechas* (**Bachiriet al., 2016**), obtenus par le même mode d'extraction. Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car la méthode, les solvants et les conditions d'extraction, l'origine géographique, les conditions du stockage et la période de la récolte ne sont différents.

Le screening phytochimique a été réalisé dans le but de déterminer qualitativement la présence des tanins et des flavonoïdes, deux groupes importants de polyphénols, et qui sont présents selon les résultats obtenus dans les extraits hydrométhanoliques des plantes étudiées avec des intensités variables.

Nos résultats sont en accord avec l'étude réalisée par **Dif et al., 2016** sur les feuilles des trois espèces de *Lavandula* et qui rapporte une importante présence des tanins dans les feuilles de *L. dentata* et *L. multifida* et une faible présence dans les feuilles de *L. stoechas*. Tandis que les flavonoïdes sont moyennement présents dans les feuilles des trois plantes étudiées.

Un autre travail réalisé sur les parties aériennes de *L. dentata* et *L. stoechas*, montre que les extraits contiennent des tanins et des flavonoïdes avec des intensité variables (**Bachiriet al., 2016**).

L'étude quantitative des polyphénols a révélé que les teneurs en polyphénols sont proches pour les extraits hydrométhanolique des feuilles et des fleurs de *L. dentata* (15.81 et 16.42mg EAG/g MS, respectivement) et pour ceux de *L. stoechas* (18.05 et 17.82 mg EAG/g MS, respectivement). Cependant, l'extrait des feuilles de *L. multifida* a une teneur plus élevée que celle des fleurs. C'est l'extrait le plus riche en polyphénols totaux parmi les six étudiés.

Le teneur en phénols totaux calculées en mg EAG/g extrait dans toute la partie aérienne de *L. multifida*, étudiée par **Ramchoun et al. (2009)**, est de 199,16 mg EAG/g extrait. Cette teneur est très proche de celle obtenu, seulement, dans les feuilles de notre plante de la même espèce (192 mg EAG/g extrait),

Les teneurs en polyphénols sont supérieures à celles trouvées par **Dif et al. (2016)** dans les extraits des feuilles de *L. multifida* (74.74 mg EAG/g extrait) et *L. stoechas* (67.58 mg EAG/g extrait) et *L. dentata* (60.84 mg EAG/g extrait).

Une autre étude montre que les teneurs respectives en phénols totaux dans les plantes entières de *L. dentata* et *L. stoecha* sont 184,02 mg EAG/g extrait et 64,54 mg EAG/g extrait. Des teneurs qu'on ne peut pas comparer avec les nôtres, pour les feuilles et les fleurs des mêmes espèces, étudiées séparément (**Bachiriet al., 2016**).

Plus récemment, un travail réalisé sur les feuilles de *L. dentata* révèle la présence d'une quantité en polyphénols totaux plus élevée (39.58 mg EAG/g MS) que la nôtre (**Bettaieb et al., 2017**).

Dans le but de l'estimation du pouvoir antioxydant de ces espèces, nous avons combiné deux méthodes complémentaires basées sur de deux mécanismes : le transfert d'électrons (la réduction du fer) et le transfert d'atomes d'hydrogène (le piégeage du radical DPPH<sup>\*</sup>).

Dans le test de piégeage du radical libre DPPH<sup>\*</sup>, tous nos extraits hydrométhanoliques ont une CI<sub>50</sub> plus élevée que celle du standard, le BHA, donc une activité antioxydante moins importante. L'extrait des feuilles de *L. multifida* est le plus actif par rapport aux autres extraits.

Dans une autre étude faite par **Ramchoun et al. (2009)**, sur l'extrait de la partie aérienne de *L. multifida*, la valeur de CI<sub>50</sub> est de 2,6mg/ml. Une valeur supérieure à celle des feuilles et des fleurs de *L. multifida*, étudiée dans ce travail.

De même, les valeurs d'CI<sub>50</sub>, obtenues par **Dif et al., 2016** des feuilles des trois espèces de *Lavandula*, sont 2.15 mg/ml pour *L. dentata*, 17.36 mg/ml pour *L. multifida* et 25.52 mg/ml pour *L. stoechas*. Des valeurs nettement supérieures aux nôtres.

Toutefois, l'étude effectuée par **Bettaieb et al. (2017)** sur les feuilles, les tiges et les racines de *L. dentata* révèle des valeurs de CI<sub>50</sub> de : 200.8 ; 178.70 et 50.36µg /ml respectivement, et donc une activité plus importante que celle de notre plante.

Pour la réduction de fer, les CE<sub>50</sub> enregistrées pour les extraits des feuilles de *L. multifida*, *L. stoechas* et *L. dentata* et ses fleurs, sont très élevées par rapport à l'acide ascorbique qui se révèle beaucoup plus actif. Les extraits de *L. multifida* est plus actif par rapport aux autres extraits.

Dans une étude réalisée par **Ramdan et al., 2017**, l'extrait aqueux de *L. dentata* a une activité moins importante par rapport aux extraits hydrométhanoliques de la même espèce. Par contre l'extrait éthanolique (EC5 346,5µg /ml) à une activité plus importante.

# *Conclusion*

Ces dernières années, les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans le domaine médical et dans l'industrie pharmaceutique.

Dans ce cadre nous nous sommes intéressés à la quantification des phénols totaux et au pouvoir antioxydant des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des fleurs de *L. dentata*, *L. multifida* et *L. stoechas*.

A partir des résultats obtenus au cours de cette étude nous avons remarqué la présence flavonoïdes et des tanins dans les deux parties des trois plantes étudiées.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux, dans ces extraits et de leurs activités antioxydantes par la capacité de piégeage de radical DPPH<sup>•</sup> et la réduction de fer, montrent que les extraits des feuilles de *L. multifida* ont un taux élevé en polyphénols et un pouvoir antioxydant important par rapport aux autres extraits. Cette activité reste faible en comparant les valeurs de CI<sub>50</sub> des extraits par rapport à celles des contrôles positifs (BHA pour le test DPPH<sup>•</sup> et acide ascorbique pour la technique de FRAP). Cela est peut-être dû au fait que les concentrations requises pour exercer une activité antioxydante sont plus élevées pour les extraits de plantes que pour les molécules de synthèse.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus, *in vitro*, ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances naturelles qui ont une activité antioxydante. Il serait intéressant de réaliser d'autres techniques et méthodes comme :

- Tester l'effet antioxydant par d'autres méthodes
- Evaluer le potentiel antioxydant de ces extraits, *in vivo*
- Isoler et identifier des composés chimiques de ces plantes responsables de l'activité antioxydante de *L. multifida*
- Déterminer d'autres activités comme : l'activité antibactérienne, antidiabétique, anticancéreuse etc....
- Evaluer l'effet hémolytique de ces plantes.

*Références*

*Bibliographique*

1. Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibjibijen, J., & Nassiri, L. (2016). Etude Phytochimique et Activité Antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.
2. Bamforth CW (1999) Beer haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 57(3): 81-90.
3. Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M. L., & Ksouri, R. (2017). Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of New Sciences-Agriculture & Biotechnology*, 39(2), 2096-2105.
4. Bisoli, E., Garcez, W. S., Hamerski, L., Tieppo, C., & Garcez, F. R. (2008). Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. *Molecules*, 13(11), 2717-2728.
5. Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, 79-82.
6. Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., Chakir, S., & Alaoui, T. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, 78(1), 6685-6693.
7. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igetic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.
8. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT--Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30.
9. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
10. Cao, G., Alessio, H.M., Cutler, R.G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biology and Medicine*, 14, 303-311.
11. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308.
12. Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Atik-Bekara, F., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., Tefiani, C., & Larbat, R. (2015). Antioxidant, haemolytic activities and HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *Oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*. 64:182-187.

13. Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.
14. Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
15. Damiki, L., & Alakh, N. S. (2011). Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An in vitro study. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(1), 277-283.
16. Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). Tac & doc.
17. Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.
18. Dif, M. M., Benyahia, M., Benali, F. T., Rahmani, M., & Bouazza, S. (2016). Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. *Phytothérapie*, 1-6.
19. Dupont F, Guoguard JL. 2007. Botanique: systématique moléculaire. 14<sup>ème</sup> Edition Masson Paris.
20. Durand, Geneviève, and Jean-Louis Beaudoux. Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. *Lavoisier*, 2011
21. Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
22. El-Hilaly, J., Hmammouchi, M., & Lyoussi, B. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2), 149-158.
23. Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.
24. Foti, M.C., Daquino, C., & Geraci, C. (2004). Electron- Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical assay, *The Journal of Organic Chemistry*, 69(7), 2309-2314.
25. Gamez, M. J., Jimenez, J., Risco, S., & Zarzuelo, A. (1987). Hypoglycemic activity in various species of the genus *Lavandula*. Part 1: *Lavandula stoechas* L. and *Lavandula multifida* L. *Die Pharmazie*, 42(10), 706.
26. Gee, J. M., & Johnson, I. T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health *Current Medicinal Chemistry*, 8(11):1245-55.

27. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
28. Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, et al (2007) A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of Biotechnology*, 6(4): 410–8.
29. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628-38.
30. Hasnat, N., & Abdelouahid, D. (2013). Phytochemical Screening and antimicrobial activity of essential oils from *Rhettinolepis Lonadioides* grwing wild in Bechar region. *PhytoChem & BioSub Journal*. 7(1), 28-34.
31. Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
32. Hocquemiller, R., Cave, A., Jacquemin, H., Touche, A., & Forgacs, P. (1982). Alcaloides des annonacées. Xxxvi (alcaloides de l'*Annona crassiflora* mart). *Plantes medicinales et phytotherapie*. Tome XVI, 1, p. 4-6
33. Huang, D.J., Ou, B.X., & Prior, R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 1841-1856.
34. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and anti-oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et métabolisme*, 20(4), 165.
35. Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., & Evstatieva, L.N. (2001). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochemical Analysis*, 13(1):8-17.
36. Lippert, W., & Podlech, D. (2005). *Plantes de Méditerranée*. Nathan.
37. Macheix, J. J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta botanica gallica*, 143(6), 473-479.
38. Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses polytechniques.
39. Maihebiau, P. (1994). La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. *Lausanne*.
40. Manian, R., Anusuya, N., Siddhuraju, P., & Manian, S. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia*

- sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry*, 107(3), 1000-1007.
41. Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*, 20(4), 458-463.
42. Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000) The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*. 52(4): 673-751.
43. Mourre, C. (1923). *La lavande française : sa culture, son industrie, son analyse*. Gauthier-Villars.
44. Mpondo, E. M., Yinyang, J., & Dibong, S. D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.
45. Orban, J. C. (2010). Oxygène, stress oxydant. Chapitre : Désordres métaboliques et réanimation, p, 427-437.
46. Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E. K., Prior, R. L., & Huang, D. (2002). Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2772-2777.
47. Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278.
48. Parejo. I., Viladomat. F., Bastida. J., Rosas-Romero.A., Flerlage. N., Burillo. J., & Codina C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23): 6882-6890.
49. Paris. R., & Moyse. H. (1969). Précis de matière médicale. Paris:Masson
50. Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (8), 3101-3113.
51. Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.
52. Ramchoun, M., Harnafi, H., Alem, C., Benlyas, M., Elrhaffari, L., & Amrani, S. (2009). Study on antioxidant and hypolipidemic effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus vulgaris* and *Lavendula multifida*. *Pharmacognosy Research*, 1(3), 106.

53. Ramdan, B., Amakran, A., Bakrim, N., Vannier, B., Greche, H., & Nhiri, M. (2017). Anti-glycation and radical scavenging activities of hydro-alcohol and aqueous extracts of nine species from Lamiaceae family. *Journal of Medicinal Plants*, 5(1), 331-345.
54. Richter, G. 1993. Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.
55. Silanikove, N., Perevolotsky, A., & Provenza, F. D. (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 69-81.
56. Sosa, S., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I., & Della Loggia, R. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4), 271-277.
57. Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57.
58. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95(2), 200-204.
59. Trabut L., 2006. Noms indigènes des plantes d'Afrique du Nord. Edition Ibis Press Paris.
60. Ulubelen, A., & Olcay, Y. (1989). Triterpenoids from *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*. *Fitoterapia*, 60, 475-476.
61. Ulubelen, A., Gören, N., & Olcay, Y. (1988). Longipinene derivatives from *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*. *Phytochemistry*, 27(12), 3966-3967.
62. Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue*, 18(1), 16-23.
63. Vermerris W, Nicholson R (2006) Isolation and identification of phenolic compounds. In: Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht New York, pp. 35–62.
64. [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org)

## Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés à l'estimation des teneurs en polyphénols et de l'activité antioxydante de trois espèces de *Lavandula* (*L. dentata*, *L. multifida*, *L. stoechas*) de la région de Tlemcen.

Six extraits hydrométhanoliques ont été préparés à partir des feuilles et des fleurs des plantes étudiées. Les rendements obtenus sont variables avec un rendement plus important pour les feuilles de *L. dentata* (21,52%).

Les tests phytochimiques révèlent la présence des tanins et des flavonoïdes dans tous les extraits avec des intensités variables. Le dosage des phénols totaux par la méthode de Folin ciocalteu, montre que l'extrait des feuilles de *L. multifida* est le plus riche en phénols totaux (23.01 mg EAG/g MS).

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits, évaluée par deux méthodes chimiques, le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> et la réduction du fer, révèlent que les extraits ont des capacités antioxydants mais moins importantes que celles des contrôles positifs, le BHA et l'acide ascorbique, et que les extraits de *L. multifida*, notamment celui des feuilles, ont le pouvoir antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits.

**Mots clés :** *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida*, *Lavandula stoechas*, Polyphénols, Activité antioxydante, DPPH<sup>•</sup>, réduction du fer.

## Abstract

As part of the discovery of new antioxidants from natural sources, we are interested in estimating the levels of polyphenols and antioxidant activity of three species of *Lavandula* (*L. dentata*, and *L. multifida*, *L. stoechas*) in the region of Tlemcen.

Six hydromethanoliques extracts were prepared from the leaves and flowers of the plants studied. The yields are variable with a performance more important for the leaves of *L. dentata* (21,52%).

Phytochemical tests reveal the presence of tannins and flavonoids in all extracts with varying intensities. The dosage of total phenols by Folin-ciocalteu method, shows that the extract of the leaves of *L. multifida* is the richest in total phenols (23.01mgEAG/g MS).

Results of the antioxidant activity of the extracts, assessed by two chemical methods, the DPPH<sup>•</sup> free radical trapping and iron reduction, show that extracts have antioxidants abilities but less important than those of positive controls, BHA and Ascorbic acid, and *L. multifida* extracts, notably the leaves, have the most important antioxidant power compared to other extracts.

**Key words:** *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida*, *Lavandula stoechas*, Polyphenols, activity antioxydante, DPPH<sup>•</sup>, reduction of iron.

## ملخص

في إطار اكتشاف مضادات أكسدة جديدة من المصادر الطبيعية، نحن مهتمون بتقدير مستويات البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة لثلاث نباتات من نفس النوع ضمن *Lavandula* (*L. dentata*, *L. multifida*, *L. stoechas*) لمنطقة تلمسان.

أعدت ستة مستخلصات الميثانول المائية، من أوراق وزهور النباتات لدراستها. المرود الأكثر أهمية يعود لأوراق *L. dentata* (21,52%). الاختبارات النوعية كشفت وجود العفص والفلافونويدات في جميع المستخلصات بدرجات متفاوتة. كما أظهر التحليل الكمي للفينولات الكلية بأسلوب Folin-ciocalteu أن مستخلص أوراق *L. multifida* يعتبر الأغنى في مجموع الفينولات (23.01 ملغ/غ).

أظهرت نتائج النشاطات المضادة للأكسدة، بالطريقتين الكيمياءيتين، نشاط تثبيط جذر DPPH<sup>•</sup> والحد من الحديد، أن المستخلصات لها قدرات مضادة للأكسدة ولكن أقل أهمية من قوة BHT وحمض الأسكوربيك وأن أوراق *L. multifida* هي الأغنى.

**الكلمات الرئيسية:** *L. dentata*, *L. multifida*, *L. stoechas*، البوليفينول، النشاط المضاد للأكسدة، نشاط تثبيط جذر DPPH<sup>•</sup>، الحد من الحديد.