

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BAKER BELKID DE TLEMCEN

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

Département de biologie

MEMOIRE

Présenté par

Melle Belhadj Salima

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie appliquée

Thème

Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante médicinale Sonchus oleraceus L. (El-tifaf)

Soutenu le :		devant le jury composé de :		
Présidente Melle Benariba N.		Professeur	Université de Tlemcen	
Examinatrice	Mme Mejdoub H.	Maître de conférences B	Université de Tlemcen	
Examinatrice	Mme Belkacem N.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen	
Encadreur	Mme Meliani N.	Maître de conférences B	Université de Tlemcen	

Année universitaire : 2018-2019.

Remerciement

Je tiens tous d'abord à remercier ALLAH, tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté de mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer tous mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme Meliani N.** Maître de conférences à la faculté des sciences, Université Abou BekrBelkaid de Tlemcen pour son soutien et sa compréhension pertinente de ce travail, merci Madame de m'avoir guidée et orientée durant l'accomplissement de ce travail, avec beaucoup de patience et de savoir-faire. Je remercie les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail; je vous en suis très reconnaissante et en espérant être à la hauteur de votre confiance.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mme Benariba N.** Maitre de conférences au département de Biologie à la faculté des Sciences de la nature et de la vie, des Sciences de la terre et de l'univers, Université Abou BekrBelkaid Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens à remercier **Mme Mejdoub H.** maitre de conférences à la faculté des sciences Université Abou BekrBelkaid de Tlemcen, pour leurs conseils, leurs orientations scientifiques ainsi pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Je remercie également **Mme Belkacem N.** maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de vie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de me faire l'honneur d'examiner et discuter ce travail.

Mes vifs remercîments et mes profonds respects vont aussi à monsieur **Mr. Ghalem S.** professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen et directeur du laboratoire LASNABIO « Substances Naturelles et Bioactives » de m'avoir donné la chance de faire les manipulations au sein de son laboratoire.

Je tiens particulièrement à remercier **Mr. DIB M.** professeur à Université de Tlemcen Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance.

Je remercie également **Mr.Hassani F**. professeur du laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen pour me faire l'identification de la plante étudiée dans ce travail.

Dédicace



Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail particulièrement à mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments

A mon défunt papa l'hadj Mohammed

L'homme de ma vie, mon exemple éternel, le meilleur des parents, j'ai tellement souhaité que tu sois présent pour partager cette joie, tu as été toujours fier de moi et tu n'as jamais cessé de m'encourager, d'une façon ou d'une autre ton âme m'a jamais quitté, tu as été au courant de toutes les étapes de mon travail et de ma vie, merci papa pour ton éducation, certainement je sentirai ta présence ce jour-là, Allah yerhmek.

Et à toi ma mère

La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur; Pour ton affection, ta patience, ta compréhension, ta disponibilité, ton écoute permanente et ton soutien sans égal dans moments les plus difficiles de ma vie. Maman je t'adore et Que dieu te garde à moi.

Je dédie ce travail également :

À mes chers frère et sœurs

 \hat{A} mes chers oncles, ma famille et tous mes amis

Table des matières

Introduction.	01
Section 1 : Partie bibliographique	
Chapitre I: les métabolites secondaires.	03
I. Généralité sur la phytothérapie et les plantes médicinales	03
II. Les métabolites secondaires	04
II.1.Définition de métabolites secondaires.	04
II .2.Classification des métabolites	04
II.2.1.les composés phénoliques	05
II.2.1.1. Définition des composés phénoliques.	05
II.2.1.2. Propriétés biologiques des composés phénoliques	00
II.2.1.3. Les principales classes des composés phénoliques	00
II.2.1.3. 1. Les flavonoïdes.	09
II.2.1.3. 2. Les anthocyanosides.	12
II.2.1.3. 3.Les tanins.	13
II.2.1.3. 4. Les phénols simples et les acides phénoliques	10
II.2.1.3. 5.Les coumarines.	18
II.2.1.3. 6.Les quinones.	19
II.2.1.3. 7. Les stilbènes.	19
II.2.1.3. 8.Les lignanes.	20
II.2.2.Les composés azotés.	20
II.2.2.1. Les alcaloïdes.	20
II.2.3. Les composés terpéniques	21
II.2.3. 1.Les saponosides.	2
II.2.3.2.Les huiles essentielles.	22
Chapitre 2: Activité antioxydante	25
I. Généralité sur le stress oxydant	25

II. Les radicaux libres	25
II.1.Définition des radicaux libres.	25
II .2.Classification des radicaux libres.	26
II .3. Origine de production de radicaux libres	27
II .4. Principales cibles biologiques et pathologies des radicaux libres	27
II .5. la défense contre les radicaux libres.	29
II .5.1. Les antioxydants	29
II .5.1.1.Définition des antioxydants.	29
II .5.1.2. Différents types d'antioxydants	29
II .5.1.2.1. Les antioxydants enzymatiques.	30
II .5.1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.	30
II .5.1.3. Mécanisme d'action des antioxydants	31
II .5.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	33
II .5.3. Plantes médicinales douées d'activité antioxydante	34
II .5.3. Plantes médicinales douées d'activité antioxydante	34 37
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. »	37
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées	37 37
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées I.1.Introduction	37 37 37
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées I.1.Introduction I.2.description botanique des Astéracées	37 37 37 37
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées I.1. Introduction I.2. description botanique des Astéracées I.2. Systématique des Astéracées	37 37 37 38
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées I.1. Introduction I.2. description botanique des Astéracées I.2. Systématique des Astéracées II. Présentation de la plante « Sonchus oleraceus L. ».	377 377 377 388 39
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. » I. Présentation de la famille des Astéracées I.1. Introduction I.2. description botanique des Astéracées I.2. Systématique des Astéracées II. Présentation de la plante « Sonchus oleraceus L. » III. Nomenclature de la plante	377 377 377 388 399
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. ». I. Présentation de la famille des Astéracées I.1. Introduction I.2. description botanique des Astéracées I.2. Systématique des Astéracées II. Présentation de la plante « Sonchus oleraceus L. ». II.1. Nomenclature de la plante. II.2. Systématique de la plante.	377 377 377 388 399 399
Chapitre 3: Présentation de la plante médicinale « Sonchus oleraceus L. ». I. Présentation de la famille des Astéracées. I.1. Introduction. I.2. description botanique des Astéracées. I.2. Systématique des Astéracées. II. Présentation de la plante « Sonchus oleraceus L. ». II.1. Nomenclature de la plante. II.2. Systématique de la plante. II.3. Description botanique.	37 37 37 38 39 39 40

Section 2 : Partie expérimentale

I. N	Aatériel végétal
I.1.	Origine géographique et période de récolte de la plante
I.2.	Identification botanique.
I.2.	Préparation des échantillons
II.	Extraction des principes actifs
II.1	.Les extraits bruts
II.1	.1. Préparation des extraits bruts
II.1	.1.1. Extraction sous reflux
II.1	.1.2. Extraction par macération.
II.1	.2. Calcul du rendement des extraits bruts.
II.1	.3. Analyses qualitatives et quantitatives réalisés sur les extraits bruts
II.1	.3.1. Analyse qualitatives (tests phytochimiques)
II.1	.3.2. Analyse quantitatives (dosage de polyphénols)
II.2	Extraction des tanins
II.2	.1.Préparation de l'extrait des tanins.
II.2	.2.Calcul du rendement de l'extrait des tanins
II.3	Extraction de l'huile essentielle
II.3	.1. Préparation de l'extrait de l'huile essentielle
II.3	.2.Calcul du rendement de l'extrait de l'huile essentielle
III.	Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de plantes
III.	1. Méthode de Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)
III.	2. Méthode de réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power)
	Section 3 : Résultats et discussion
I.	Rendement en extraits bruts secs.
II.	Composition des extraits bruts en métabolites secondaires
III.	Pourcentage des polyphénols

Annexe	89
Références bibliographiques	7 9
Conclusion générale	76
VI. 2.Méthode de réduction du fer FRAP.	72
VI .1. Méthode de Piégeage du radical libre DPPH.	66
VI. Pouvoir antioxydant des extraits de Sonchus oleraceus	66
V. Rendement de l'huile essentielle	65
IV. Rendement de la matière grasse et tanins	64

Liste des figures

Figure 1:	Classification des polyphénols.	07
Figure 2:	Structure de base des flavonoïdes.	09
Figure 3:	Structures des squelettes de base des flavonoïdes.	10
Figure 4:	Structure des anthocyanosides.	12
Figure 5 :	Structure chimique des acides gallique (A) et éllagiques (B).	14
Figure 6:	Structure chimique des tanins condensés.	15
Figure 7:	Déséquilibre de la balance antioxydants/Oxydants.	25
Figure 8:	Mécanisme de production des EOR et EAR impliqués en biologie.	26
Figure 9:	Les sources des radicaux libres.	27
Figure10:	Aperçu des différents antioxydants régulateurs de la production des espèces	30
	oxygénées activées (EOA).	
Figure11:	Types de fleurs des Astéracées.	38
Figure12:	La plante de Sonchus oleraceus.	39
Figure13:	La tige de sonchus oleraceus.	40
Figure14:	Les feuilles de sonchus oleraceus.	40
Figure15:	Les fleurs et les akènes de sonchus oleraceus.	40
Figure16:	Feuilles, tiges, fleurs, et racines de sonchus oleraceus.	43
Figure17:	Montage à reflux.	44
Figure 18:	La solution aqueuse de la partie aérienne de la plante.	45
Figure19:	Solution éthanolique de la partie aérienne de la plante.	45
Figure 20:	Solution éthanolique des racines de la plante.	45
Figure21:	Extraction avec le dichlorométhane.	51
Figure22:	Extraction avec l'acétate d'éthyle.	51
Figure23:	Protocole d'extraction des tanins.	51
Figure24:	Equation du radical DPPH transformé en DPPH.	53
Figure25:	Spectrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance.	54
Figure26:	Réaction de la méthode FRAP.	55
Figure27:	Rendements des différents extraits de la plante.	58
Figure 28:	La différence entre l'extrait aqueux par macération et sous reflux dans la	61
	détection des tanins.	
Figure 29:	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	63

Figure 30:	re30 : Détection des tanins par le Réactif Chlorure ferrique FeCl _{3.}		
Figure31 :	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations		
	d'acide ascorbique.	66	
Figure32:	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations		
	d'extrait des tanins.	67	
Figure33 :	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations		
	d'extrait d'huile essentielle.	67	
Figure34 :	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations	68	
	de différents extraits aqueux de la plante.		
Figure35 :	Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations	69	
	de différents extraits aqueux de la plante.		
Figure36 :	Pouvoir réducteur des extraits obtenus par reflux et de l'acide ascorbique	73	
	par la méthode FRAP.		
Figure37 :	Pouvoir réducteur des extraits obtenus par macération et de l'acide	73	
	ascorbique par la méthode FRAP.		
Figure38 :	Pouvoir réducteur des tanins et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP.	75	
Figure39 :	Pouvoir réducteur de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique Par la méthode	75	
riguito,	FRAP.	,,	

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Cableau 1 : Exemple de quelques principes actifs utilisés en pharmacologie avec leu sources végétales et leurs rôles thérapeutiques.	
Tableau2:	Principales classes des composés phénoliques.	8
Tableau3:	Quelques maladies impliquant par les RL.	29
Tableau4:	Mode d'action des antioxydants enzymatiques.	31
Tableau5:	Mode d'action des antioxydants non enzymatiques.	32
Tableau6 :	Exemple de quelques plantes médicinales douées de l'activité antioxydante.	35
Tableau7:	Situation géographique de la station d'étude.	43
Tableau8 :	Les masses et les rendements obtenus de différents extraits bruts de la plante.	58
Tableau9:	Tests phytochimiques des extraits sous reflux de la plante.	60
Tableau10 :	Tests phytochimiques des extraits de la plante par macération à température ambiante.	60
Tableau11:	Absorbance de l'acide gallique en fonction de différentes concentrations	63
Tableau12:	Pourcentage en composés phénoliques des extraits aqueux de la partie aérienne et les racines de la plante en fonction de concentration	64
Tableau 13:	Rendement de la matière grasse.	65
Tableau14:	Rendement de l'extrait sec des tanins.	65
Tableau15:	Rendements de l'extrait d'huile essentielle.	66
Tableau16:	Valeurs des IC50 et le pouvoir antiradicalaire (ARP) des différents extraits de la plante.	70

Liste des abréviations

Ac: Acide

DO: Densité optique

DPPH: 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl

EAR: Espèces azotées réactives

EA(PA): Extrait aqueux de partie aérienne

EA(RA): Extrait aqueux des racines

EE(PA): Extrait éthanolique de la partie aérienne

EE(**RA**): Extrait éthanolique des racines

EOR: Espèces oxygénées réactives

EtOH: Ethanol

FeCl₃: Chlorure de fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

IC50 : Concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire

mg: Milligramme

min: Minutes

ml: Millilitre

nm: Nanomètre

PI Pourcentage d'inhibition

Rdt: Rendements

RL: Radicaux libres

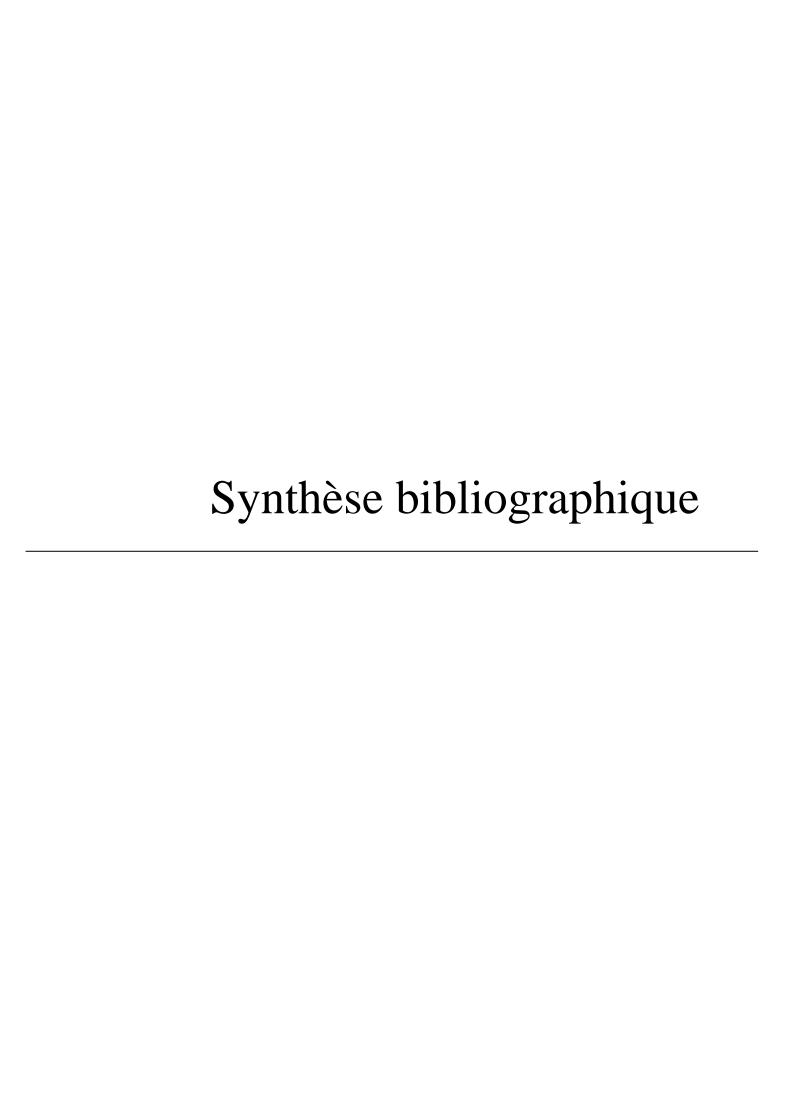
tpm: Tour par minute

UV: Ultra-violet

[C]: Concentration

μg: Microgramme

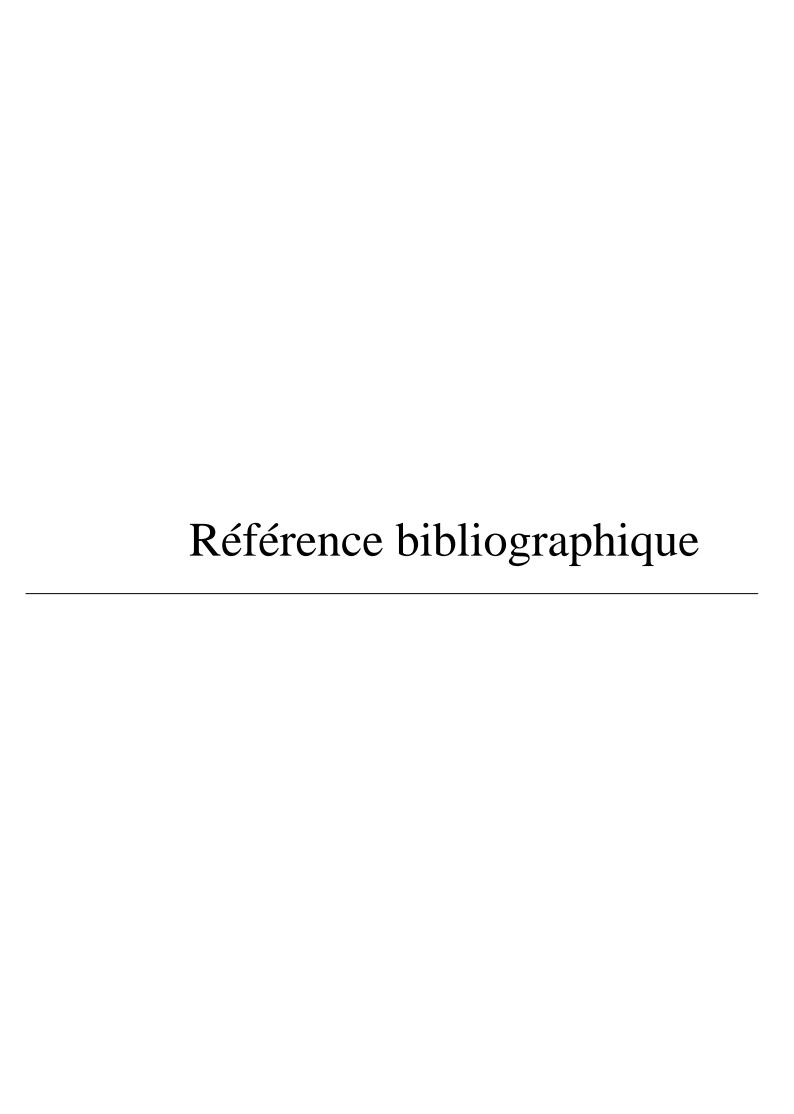












Annexe

Résumé

Sonchus oleraceus est une plante médicinale de la famille des Astéracées utilisée depuis l'antiquité contre de nombreuses maladies. Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de cette espèce. Dans cette étude, nous avons tenté de mettre en évidence d'une part la différence entre les méthodes d'extraction par macération à chaud et à froid, et d'autre part, la différence entre les différentes parties de la plante point de vue rendements et compositions chimiques Les résultats expérimentaux ont montré que les rendements d'extraction les plus élevées sont ceux qui ont été obtenus par le protocole sous reflux et que les extraits de la partie aérienne donnent des meilleurs rendements. L'analyse phytochimique et le dosage ont relevé que cette espèce renferme des polyphénols avec un pourcentage de 41% dans la partie aérienne de la plante sèche. Nous avons consacré une partie de cette étude à l'extraction sélectives des tanins et d'huile essentielle afin d'estimer leurs rendements et leurs efficacités antioxydante. L'évaluation de l'activité antioxydante de cette plante par la méthode de réduction du radical libre DPPH, et le pouvoir chélateur du fer, nous a permis d'établir une corrélation entre leur teneur en métabolites secondaire et leurs activité antioxydante, les résultats ont montré que les extraits sous reflux sont très actifs en particulier l'extrait aqueux de la partie aérienne qui donne la concentration inhibitrice à 50% la plus faible 0,046mg/ml et un peu similaire à celle de l'acide ascorbique (0,041 mg/ml) Par ailleurs le pouvoir antiradicalaire des tanins était important mais relativement faible par rapport au témoin acide ascorbique. Cependant le pouvoir antiradicalaire des huiles essentielles a été très faible.

ملخص

سونشوس اوليغاسوس هو نبات طبي من عائلة النجمية تستخدم منذ العصور القديمة ضد العديد من الأمراض. العمل الحالي هو جزء من المساهمة في دراسة الكيمياء النباتية وتقييم نشاط مضادات الأكسدة في مقتطفات من هذا النوع. في هذه الدراسة ، حاولنا تسليط الضوء من ناحية على الفرق بين طرق الطرد الساخنة والباردة ، ومن ناحية أخرى ، الفرق بين الأجزاء المختلفة من النبات. أظهرت النتائج التجريبية أن أعلى مردود استخراج هي تلك التي حصل عليها البروتوكول تحت الارتداد وأن مقتطفات الجزء الجوي تعطي غلات أفضل. أشار التحليل الكيميائي النباتي والمقايسة إلى أن هذا النوع يحتوي على مادة البوليفينول بنسبة 41٪ في الجزء الجوي من النبات الجاف. لقد كرسنا جزءًا من هذه الدراسة للاستخراج الانتقائي للعفص والزيوت الأساسية من أجل تقدير مردودها وكفاءاتها الجذري الحر ، وقوة مخلب DPPH المضادة للأكسدة. لقد سمح لنا تقييم نشاط مضادات الأكسدة لهذا النبات من خلال طريقة الحد من الحديد ، بإقامة علاقة بين محتواها من الأيضات الثانوية ونشاطها المضاد للأكسدة ، أظهرت أن مستخلصات الارتجاع نشطة للغاية خاصة المستخلص المائي للجزء الهوائي الذي يعطي أقل تركيز مثبط بنسبة 50٪ 60.046 ملغم / مل ويشبه قليلاً تركيز حمض الأسكوربيك (0.041) ملغ / مل) علاوة على ذلك ، كانت القوة المضادة للعقاقير من العفص مهمة ولكن منخفضة نسبيا مقارنة مع السيطرة على حمض الاسكوربيك بينما القوة المضادة للزيوت العطرية منخفضة للغاية

Summary

Sonchus oleraceus is a medicinal plant of the family Asteraceae used since antiquity against many diseases. The present work is part of the contribution to the phytochemical study and the evaluation of the antioxidant activity of the extracts of this species. In this study, we have tried to highlight on the one hand the difference between hot and cold maceration methods, and on the other hand, the difference between the different parts of the plant. The experimental results have shown that the highest extraction yields are those obtained by the protocol under reflux and that the extract of the aerial part give better yields. The phytochemical analysis and the assay noted that this species contains polyphenols with a percentage of 41% in the aerial part of the dry plant. We have devoted a part of this study to the selective extraction of tannins and essential oil in order to estimate their yields and their antioxidant efficiencies. The evaluation of the antioxidant activity of this plant by the method of reduction of the free radical DPPH, and the chelating power of iron, allowed us to establish a correlation between their content of secondary metabolites and their antioxidant activity, the results have showed that the refluxing extracts are very active especially the aqueous extract of the aerial part which gives the lowest 50% inhibitory concentration 0.046 mg / ml and a little similar to that of ascorbic acid (0.041 mg / ml) Moreover, the antiradical power of the tannins was important but relatively low compared to the ascorbic acid control. However the antiradical power of essential oils has been very low.

Depuis l'antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition afin de soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. Ni le hasard, ni la superstition et ni la religion qui les a guidés à utiliser une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les théoriciens s'appuient d'expliquer l'action des plante sur l'organisme (**Iserin**, **2001**).

A travers les siècles nos ancêtres ont su développer leurs savoirs ce qui concerne l'utilisation des plantes médicinales. Ces dernières se caractérisent par des vertus apaisantes et analgésiques capables de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments entre autres les antibiotiques décroît en raison de leurs effets secondaires sur l'organisme (Iserin, 2001).

Au cours de ces dernières années, le monde est envahi par un nouveau concept ce qu'on appelle « le stress oxydant », qui est le facteur potentialisant à l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, et les maladies cardiovasculaires (Alain, et al., 2011). Il se traduit par l'attaque des radicaux libres sur particulièrement: les protéines, les lipides et l'ADN, qui mène finalement à la dégradation et la mort des cellules (Moon Shibamoto, 2009). C'est pour cette raison, plusieurs équipes de chercheurs se sont investis dans la recherche de nouveaux antioxydants afin de lutter contre ce phénomène.

Actuellement, les scientifiques mettent leur attention sur les antioxydants naturels qui sont devenues une nouvelle haleine vers l'exploitation des plantes médicinales en raison de leurs métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles. On estime environ 80% de la population mondiale qui profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes (El Rhaffari et Zaid, 2004).

Aujourd'hui l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne. L'Algérie comme exemple constitue un patrimoine important par la richesse et la diversité de sa flore on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi elles notre espèce étudiée « *Sonchus oleraceus* ».

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire des substances naturelles et bioactives LASNABIO au département de chimie et qui s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant l'activité antioxydante et contribution à l'étude phytochimique des extraits de la plante médicinale « *Sonchus oleraceus* » poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen et qui appartient à la famille des astéracées l'une des familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. C'est dans cette optique que notre étude a été scindée en trois parties :

- La première partie, est une synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres :
 - ✓ Chapitre 1 : les métabolites secondaires.
 - ✓ Chapitre 2 : l'activité antioxydante.
 - ✓ Chapitre 3 : présentation de la plante étudiée.
- La deuxième partie est expérimentale, elle est consacrée à :
 - ✓ L'extraction de la matière végétale à l'eau et l'éthanol par reflux et par macération à température ambiante ;
 - ✓ Tests phytochimiques ;
 - ✓ Dosage des polyphénols ;
 - ✓ Dégraissage du matériel végétal et extraction des tanins ;
 - ✓ Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation ;
 - ✓ Etude du pouvoir antioxydant in vitro de la plante par mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH, et le pouvoir réducteur (FRAP).

Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus des tests phytochimiques des deux parties de la plantes racines et partie aérienne en utilisant deux solvants à savoir l'eau et l'éthanol , le pourcentage des polyphénols, les rendements des extraits obtenus par reflux et par macération, les teneurs des tannins et de l'huile essentielle, et l'étude de l'activité antioxydante de tous les extraits obtenues par les deux méthodes décrites dans la partie expérimentale.

I. Généralité sur la phytothérapie et les plantes médicinales

Depuis des millénaires, l'utilisation des plantes fut le principal recours de l'homme pour lutter contre les maladies. La médication par les plantes ou la phytothérapie, était d'usage courant dans les plus anciennes civilisations. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin, 2001**).

Le terme **phytothérapie** provient du grec (phyto : plante, thérapie : traitement) qui signifie le traitement par les plantes ou se soigner avec les plantes, C'est une discipline allopathique destinée à Prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques à travers les plantes médicinales.

Depuis le XVIIIe siècle, les savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques des plantes médicinale en raison de leurs effets et de leurs principes actifs issues de métabolismes secondaires (**Iserin**, **2001**). Grâce aux progrès scientifiques, l'utilisation de ces substances a été développée en particulier dans l'élaboration des médicaments. Actuellement, On recense 70% de nos médicaments issus par les plantes et environ170 000 molécules bioactives qui ont été déjà identifiées (**Chaabi**, **2008**).

Les plantes médicinales ont été employées comme des sources importantes de médicaments non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais également comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs. Le « tableau1 » représente quelques principes actifs accumulant dans les plantes et qui sont utilisés comme sources principales des médicaments.

Tableau 1: exemple de quelques principes actifs utilisés en pharmacologie avec leurs sources végétales et leurs rôles thérapeutiques (**Iserin**, **2001**; **Raven**, **2017**).

Métabolite secondaire	La source végétale	Rôle
phyto-æstrogènes	Le soja	gérer les symptômes de la ménopause
paclitaxel (taxol)	L'if	utilisé comme anticancéreux
la quinine	Le quinquina	lutter contre la malaria

la digoxine	La digitale laineuse	soigne le cœur	
l'éphédrine	Les plantes du genre Ephedra	contre les rhumes	
la morphine	Pavot à opium	Analgésique	
La tubocurarine	Curare	relaxant musculaire	

Donc on peut définir les **plantes médicinales** comme étant des plantes qui s'inscrivent dans la pharmacopée et qui sont utilisés pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales. D'autre définition, les plantes sont l'ensemble des drogues végétales dont au moins une partie de leurs organes (écorce, feuille, racine..) possède des propriétés médicamenteuses grâce à leurs richesses de ce qu'on appelle les métabolites secondaires.

II. Les métabolites secondaires

II.1.Définition des métabolites secondaires

Le terme «métabolite secondaire» désigne l'ensemble des composés chimiques dans les plantes ayant diverses propriétés : antioxydante, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, Anticancéreuses ect. On distingue parmi eux : les polyphénols, les huiles essentielles, les alcaloïdes et les terpenoides. Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Ce sont des substances qui exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement et assurent la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.).

II .2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances qui ont des structures chimiques souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classées selon leur appartenance chimique (**Judd, 2002**). On distingue :

Les composés phénoliques :

- ✓ Les tanins
- ✓ Les flavonoïdes.
- ✓ Les anthocyanidines.
- ✓ Les acides phénoliques
- ✓ Les coumarines.

- ✓ Les quinones
- ✓ Les lignines.
- ✓ Les stilbènes.
- > Les composés terpéniques :
- ✓ Les saponosides.
- ✓ Les huiles essentielles.
- > Les composés azotés :
- ✓ Les alcaloïdes.

II.2.1. Les composés phénoliques

II.2.1.1. Définition des composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénolique représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne Végétal (Sonia et jean, 2011). Ce sont des espèces monomères, polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (Harbone, 1993).

Actuellement plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés (**Mompon et al., 1998**). Selon la structure, ils se répartissent en une dizaine de classe chimiques qui se caractérisent toutes à un point commun: la présence d'au moins un cycle aromatique à 6carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**).

Ils sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (**Bruneton**, 1999). Cette double origine biosynthétique est la base de la diversité structurale de ces composés phénoliques, elle accru souvent avec la participation simultanée du shikimate et l'acétate conduisant à l'élaboration de composés mixtes (flavonoïdes, stiblène, xanthones, etc.). Plusieurs milliers de polyphénols ont été identifiés dans les plantes et les aliments d'origine végétale « figure 1 ».

II.2.1.2. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans certains aspects de la plante tel que la croissance cellulaire en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance, ils sont connues pour leur effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes pollinisateurs et pour ces propriétés antifongique et antibactérienne (**Heimeur et al., 2004**).

Ils interviennent également dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation alimentaire, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques par exemple la préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini , et dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Jean-Jacques Macheix et al., 2005).

II.2.1.3. Les principales classes des composés phénoliques

La classification des composés phénolique est attribuée selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à des fonctions : ester, éther, hétérosides (**Bruneton**, **1999**). Les différentes classes de ces composés phénoliques et les plantes qui les renferment sont représentées dans le « tableau 2 ».

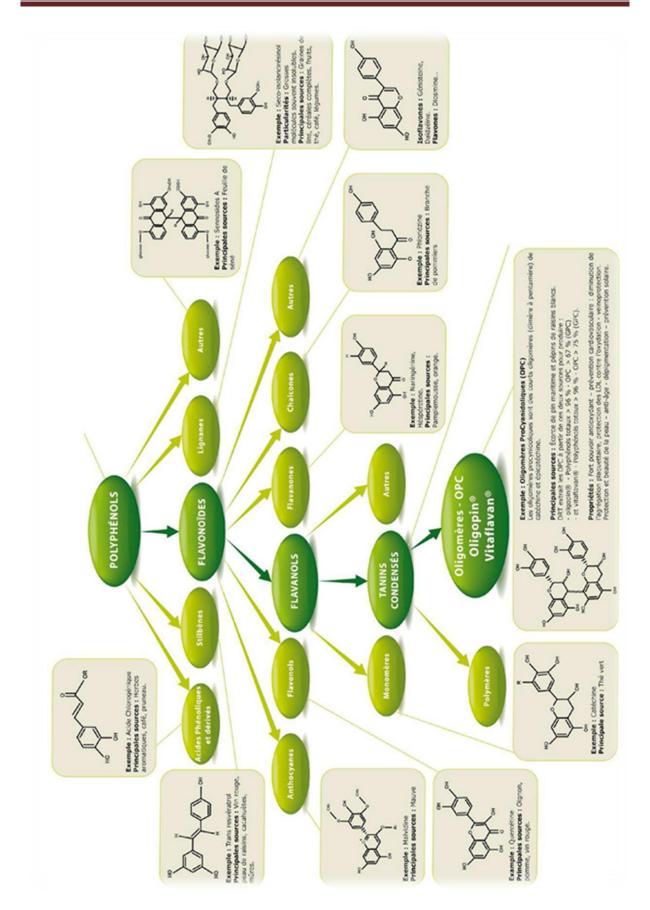


Figure 1 : Classification des polyphénols (Bruneton, 1999).

Tableau 2: Principales classes des composés phénoliques (Bruneton, 1999; Hennebelle, 2006).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols	Ac. gallique, Ac.salysalique,	Artichaut
		benzoïques	vanilline	Saule
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl6-	Saule
			méthoxybenzaldehyde	
9	C6-C3	Acides phénols	Ac. coumarique,	Romarin
		cinnamiques	Ac.caféique	Marronnier
				d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera
				spp.
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, mangoctine	Racine de
				gentiane,
				Centaurée
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Hydrangénol,	Raisin, pin
			Pinosylvine	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Quercétine	Ginkgo
		Isoflavonoïdes	Roténoide	Thym
				Camomille
18	(C6-C3)2	Lignanes	Matairésinol	Chardon
30	(C6-C3-	Bi flavonoïdes	Amentoflavone	Carcinia
	C6)2		Hinokiflavone	Hypericum
N	(C6-C3-	Tanins condensés	Aesculitanins	Marronnier
	C6)n	(proanthocyanidols		d'inde,
				vigne

II.2.1.3.1. Les flavonoïdes

a. Définition

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus répandus des composés phénoliques, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils peuvent participer dans les processus photosynthétiques (Mukohata et al., 1978), dans la régulation de gêne et dans le métabolisme de croissance (Havsteen, 2002). On les trouve particulièrement omniprésente dans les fruits, les légumes, les graines, le bois, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006).

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été recensés selon la caractérisation structurale, ils sont tous caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (**Toufektsian et al., 2008**).

b. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaine à trois carbones avec une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane. La chaine en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former un noyau hétérocyclique pyranne (cycle C) (**Bruneton**, 1999).

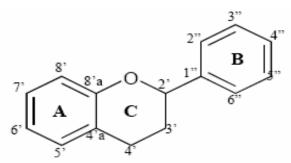


Figure2: Structure de base des flavonoïdes (Sonia et jean, 2011).

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

Selon le squelette de base on distingue différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavanes ; isoflavanes ; isoflavanoles ; tisoflavanoles ; isoflavanoles ; aurones (**Havsteen, 2002**). « Figure 3 ».

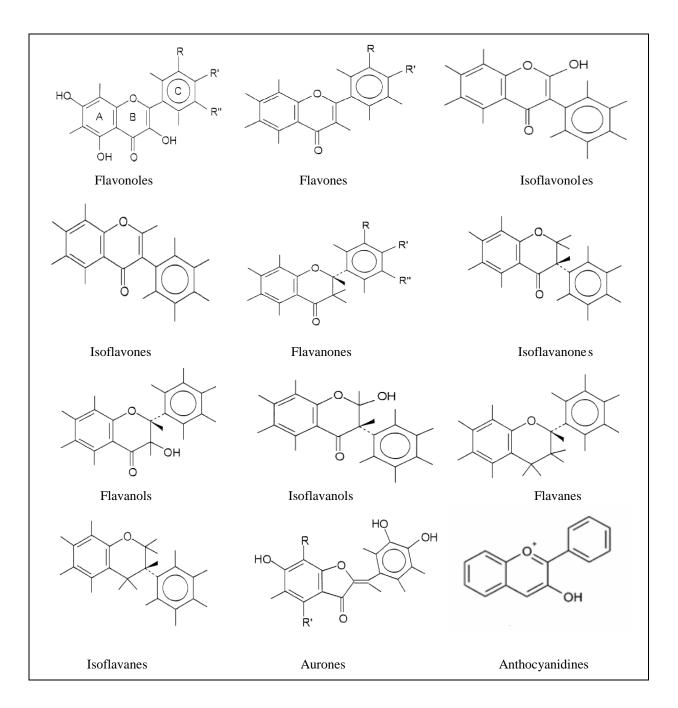


Figure 3 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Havsteen, 2002).

c. Propriétés biologiques des flavonoïdes

Depuis plusieurs années les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique en raison de leurs importance dans de nombreux processus physiologique de la plante tel que : la pigmentation, la croissance cellulaire et la reproduction (**Manach et al., 2004**). Ils sont connus également par leurs effets protecteurs des plantes vis-à-vis des microorganismes pathogènes tels que les bactéries, les virus, et les prédateurs comme les insectes (**Bravo, 1998**).

Plus particulièrement, les flavonoïdes agissent comme antioxydant qui protège la plante contre les effets néfaste des rayons ultraviolets lors de la photosynthèse (**Havsteen, 2002**).

Actuellement, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leurs capacités de capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, et les empêcher de créer des dommages cellulaire en agissant de différentes façons: soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes (Hodek et al., 2002).; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker et al., 1996). De ce fait, les flavonoïdes parviennent à prévenir de nombreuses maladies tels que: le diabète (inhibant l'aldose réductase), les inflammations (inhibant la lipoxygenase, la phospholipase et la cyclooxygenase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), les hépatites, les tumeurs, l'hypertension (quercétine), les thromboses (flavonols), les allergies et les affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson et al., 1996; Cowan, 1999).

De plus, les flavonoïdes sont capables d'exercer des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (Di Carlo et al., 1999). Certains parmi eux ont démontré des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-æstrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion (Hennebelle et al., 2004). Et certains d'autres ont démontré un potentiel d'agent vasodilatateur (Woodman et Chan, 2004), un potentiel antitumorale et anticancéreux (Birt et al., 2001), notamment les molécules appartenant à la sous-classe des flavones efficaces contre le colon (Wenzel et al., 2000) et les poumons (Liu et al,2005). De plus les anthocyanidines ont montré leurs effets inhibiteurs de la croissance des lignées cellulaires humaines (Zhang et al., 2005).

II.2.1.3.2. Les Anthocyanosides

a. Définition

Les anthocyanosides désignent l'ensemble des anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ce sont des pigments vacuolaires qui font partie de la famille des flavonoïdes, capables d'absorber la lumière visible et responsables de la coloration rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la pluparts des fleurs et des fruits (**Bruneton, 1993**). Elles constituent un groupe de pigments solubles dans l'eau, généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques. On les trouve également dans les différentes parties de la plante (racines, tiges, feuilles et graines). En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bessas et al, 2007**).

b. Structure chimique

La structure de base des anthocyanosides est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylium. Leur classification structurale se varie selon le nombre et la position de différents groupements (hydroxyles et méthoxyles), la nature, le nombre et la position des sucres (Clifford, 2000).

$$\begin{array}{c} & & & \\ & &$$

Figure 4: Structure des anthocyanosides (Clifford, 2000).

c. Propriétés biologiques des anthocyanosides

Une panoplie d'études in vitro ont montré que les anthocyanes peuvent changer la couleur des végétaux supérieurs en fonction de leur pH (Manach et al., 2004). Ils sont Présentes comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes.

Les anthocyanes sont utilisés dans la croissance des lignées cellulaires humaines en raison de leurs effet inhibiteur (**Zhang et al., 2005**); dans les troubles de la fragilité capillaire(vigne rouge, *Vitis vinifera*L.), diurétiques, et même antiseptiques urinaires. Ils sont connus également par leur propriété spécifique qui améliore la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus*L, cassis, *Ribesnigrum*L.) (**Hennebelle et al., 2004**).

En outre, les anthocyanes ce sont des puissants antioxydants qui purifient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation sanguine ; notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux, dont la mûre sauvage (*Rubus fruticosus*), la vigne rouge (*Vitis vinifera*) et l'aubépine (*Crataegus oxyacantha*) contiennent toutes des quantités appréciables (**Eberhard et al.,2005**).

II.2.1.3.3. Les tanins

a. Définition

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour «tanner » les peaux d'animaux ; autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins, 2003). Ce sont des composés phénoliques polymériques et hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 ; qui se trouvent dans l'ensemble des végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et dans toutes les parties de la plante (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils se caractérisent par la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes ; d'où leur viennent la plupart de leurs propriétés (Paolini et al., 2003).

b. Structure chimique et classification

Selon la caractérisation structurale on distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

Tannins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des oligo ou des polyesters d'un sucre qui est généralement le D-glucose associés à un nombre variable d'acide phénolique qui est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide éllagiques dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Bruneton**, 1993 ; Cowan, 1999).

Figure 5: Structure chimique des acides gallique (A) et éllagiques (B) (Cowan, 1999).

• Les tanins condensés

Les tanins condensés ou tanins catéchiques ou proanthocyanidols, ce sont des polymères flavanoliques qui différent fondamentalement des tannins hydrolysables en raison de l'absence de sucre dans leur molécule. Leurs structure est voisine de celle des flavonoïdes, ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone- carbone le plus souvent C4-C8 ou C4-C6 tel que la catéchine ou l'épicatéchine. Ce sont des composés non hydrolysable mais ils peuvent être oxydées par des acides forts libérant des anthocyanidines « figure 6 » (Hopkins, 2003 ; bruneton, 2008).

Figure 6 : Structure chimique des tanins condensés (Pokorny et al, 2001; Hagerman, 2002).

c. Propriétés biologiques des tanins

les recherches récentes ont démontré que les tanins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques thérapeutiques et chimio-protectectrices due à leurs propriétés antiradicalaires (**Tohge et al., 2005**).

En effet, Les tanins sont les principes actifs des plantes qui leurs confèrent une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). Elles sont connues également par son pouvoir astringent ; par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (chêne, *Quercus* spp.).

Concernant le pouvoir antioxydant ; cette propriété est très attribuée dans les tanins en raison de leurs noyaux phénols et la présence des groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A et les groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B. Les tannins catéchiques du thé vert (gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatéchine et l'épicatéchine) sont des puissants extracteurs des radicaux libres (**Rahman et al., 2006**). Elles inhibent les ions Cu²⁺ qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (**Yoshida et al., 1999**).

En outre, les tanins sont capable d'exercer des propriétés antimutagène (Kaur et al., 2000), antibactérienne (Bassene et al., 1995). antiviral (Hong et al., 2000)., et antiinflammatoire (Mota et al., 1985), de ce fait elles parviennent dans le traitement de diverses
maladies telles que : les rhumes, les maux de gorge, les problèmes de sécrétions, les infections

internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (**Bruneton**, 1999). Les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive (**Alilou**, 2012).

II.2.1.3.4. Les phénols simples et les acides phénoliques

a. Définition

Le nom « acides phénolique » décrit en général l'ensemble des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver cette dénomination aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique ; qui existent généralement de formes conjuguées d'ester et de glycosides et rarement sous formes libres (Hager et Howard., 2009).

b. Structure chimique et classification

• Les acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxy benzoïques sont des acides phénoliques dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque ayant une structure de base de type C6-C1.La variabilité de leurs structures dépend de leur degré d'hydroxylations et/ou de méthoxylations du noyau aromatique en diverses positions (2, 3 et 4) qui aboutissent à la formation de ces acides : les acides 4-hydroxybenzoïques, 3-hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique et salicylique (**Tomas-Barberan et al., 2000**). Le plus souvent ils sont présents sous forme conjugués (esters ou glycosides) dans les fruits et les légumes. Néanmoins l'acide gallique peut se trouver sous forme libre dans certains fruits comme le kaki. La réaction d'estérification d'une molécule de glucose avec l'un de ces acides conduisent à la formation des structures plus complexes appelées tanins hydrolysables (Clifford et al., 2000) comme les gallotanins retrouvés dans la mangue, ou les ellagitanins dans certains fruits rouges comme les fraises.

• Les acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxy cinnamiques sont des acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique qui ont une formule de base de type (C6-C3). Leur diversité structurale est également due à la variabilité des hydroxylations du noyau aromatique. Ces composés sont très répandus dans le règne végétal ; dont le plus courant est l'acide caféique qui représente à lui seul 75 à 100% des acides hydroxycinnamiques totaux de la plupart des fruits (**D'Archivio**

et al., 2007). Cependant, L'acide férulique, sinapique et para-coumarique sont répandus dans les aliments (Clifford, 2000). Ils se trouvent souvent sous forme conjugués et rarement sous forme libre.

• Phénols simples

On distingue le catéchol, gaïacol, phloroglucinol on les trouve rarement dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericacées, Rosacées, ect..). La toxicité vis-à-vis des microorganismes a été montrée par les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois (**Cowan, 1999**).

c. Propriétés biologiques des acides phénoliques

Les acides phénoliques suscitent de plus en plus l'intérêt des chercheurs en raison de leurs vertus thérapeutiques sur l'organisme. Ils sont capables d'agir positivement contre de nombreuses maladies tels que le cancer, maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Talbi et al., 2015**). Ils s'inscrivent dans des diverses activités biologiques anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti radicalaires, hépato -protecteurs et immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

Ce qui concerne l'activité antioxydante et antiradicalaires, ces deux propriétés sont très remarquables dans l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique(Bossokpi, 2002). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan, 1999). De plus il est capable d'inhiber la capacité d'invasion des cellules PC3 issues de cancer humain de la prostate (Lansky et al., 2005) ;et pour l'acide gallique, il est capable de prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux (Lee et al., 2005). En effet, il a la capacité de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris *in vitr*o, et sa combinaison avec les médicaments anticancéreux tels la cis platine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Rangkadilok et al., 2007).

II.2.1.3.5. Les coumarines

a. Définition

Ce sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal ; leurs structures de base est de type (C6-C3) ; appartiennent au groupe des composés connus par des benzo-α-pyrone(**O'Kennedy et Thornes**, **1997**) ; Elles sont toutes substituées en 7 par un hydroxyle. On les trouve dans la nature sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore combinés à des sucres (hétérosides) qui sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton**, **1999**).

b. Propriétés biologiques des coumarines

Les coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales ayant des propriétés très diverses ; selon les recherches de O'Neill et son équipe en 1957 ; ils ont montré que les coumarines jouent un rôle très efficaces dans le blocage du cancer induit chimiquement par les radiations ultraviolettes. Ces molécules sont capables de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Anderson et al., 1996).

En outre, les coumarines sont utilisés pour ses propriétés antibactérienne contre les bactéries à Gram positif (Cottiglia et al., 2001). ainsi pour leurs propriétés immunostimulantes qui provoquent l'augmentation des lymphocytes T dans la circulation sanguine (Stefanova et al., 2007). En cas d'affections cutanées leurs usages est très bénéfiques (Gonzalez et Estevez-Braun, 1997).

Ils sont également connues par d'autre propriétés cytotoxiques, antivirales, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives, antiagrégations plaquettaires, anticoagulantes, antitumorale, diurétiques, anti œdémateuses et analgésiques (**Stefanova et al., 2007**).

II.2.1.3.6. Les quinones

a. Définition

Les quinones sont l'ensemble des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Selon la structure elles se caractérisent par un motif 1,4-dicéto cylohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou éventuellement; par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diénique (ortho-quinones) (**Bruneton**, 1993). Ce sont des substances colorées et brillantes; en général rouges, jaunes ou orange trouvés ubiquitaire dans la nature; principalement dans le règne végétal et elles sont fortement réactifs (**Cowan**, 1999).

b. Propriétés biologiques des quinones

Ces composés étant colorés ; sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et les végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connus pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines (**Arif et al., 2009**).

II.2.1.3.7. Les stilbènes

a. Définition

Les stilbènes font partie d'un groupe très vaste des polyphénols celui des dérivés de l'acide cinnamique (phénylpropanoïdes). Ils sont présents dans toutes les sources végétales (Leray, 2010) possédant deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène ; dont la structure de base est de type C6-C2-C6. On les trouve généralement sous forme libres ou hétérosidiques et parfois polymériques ; ils sont présents dans de nombreuses famille de végétaux supérieurs par exemple : les raisins, les vins, le soja et les arachides (Bruneton, 2009).

b. Propriétés biologiques des stilbènes

Les stilbènes sont des métabolites secondaires présentant une potentialité de propriétés biologiques qui jouent un rôle important dans les mécanismes de défense. Ils peuvent être des régulateurs de croissance et ils sont souvent antifongiques et antimicrobiennes (**Bruneton**, 2009). Certains dérivés de stilbènes tel que le resvératrol issu du raisin possèdent des propriétés pharmacologiques (anticancéreux, cardioprotecteur, antioxydant, inhibiteur des

récepteurs aux arylhydrocarbures). Leurs effets antioxydants sont dus à leurs capacités d'inhiber la peroxydation lipidique et de protéger contre la cytotoxicité des LDL oxydés (Cohen et Souied, 2014).

II.2.1.3.8. Les lignanes :

a. Définition:

Le terme lignane désigne l'ensemble des substances phénoliques apparentées aux lignines polyphénoliques. Il a été introduit pour décrire un groupe de dimères de phénylpropanoïdes dans lesquels les unités phénylpropanes sont liées par le carbone central (C8) de chaque chaîne propylée (Lamblin et al., 2008). Ils sont naturellement présents dans les plantes supérieurs sous forme glycosides. Leurs principales sources alimentaires sont les semences oléagineuses qui contiennent les plus hautes concentrations et les céréales complètes (Descheemaeker, 2003).

b. Propriétés biologiques des lignanes :

Ces molécules sont impliquées dans les mécanismes de défense chez la plante, mais sont également utiles pour l'homme. Plusieurs études ont révélé l'action protectrice et préventive de ces molécules vis-à-vis de certains cancers, notamment les cancers hormono-dépendants (sein, prostate). On y trouve certains lignanes comme : les lignanes du lin (*LinumusitatissimumL*.) qui sont des phyto-œstrogènes, métabolisés en entérolignanes après leur ingestion par les mammifères, offrant une protection face à l'apparition et au développement de certains cancers hormono-dépendants. Certains d'autre comme la podophyllotoxine, et ses dérivés sont utilisés en chimiothérapie anticancéreuse en raison de leurs propriétés cytotoxiques (Lamblin et al., 2008).

II.2.2. Les composés azotés

II.2.2.1. Les alcaloïdes

a. Définition

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés d'origine naturel. On les trouve le plus souvent chez les végétaux ; mais rarement chez les animaux et les micro-organismes. Ils sont nommés d'après la plante qui les a fournis toujours avec une terminaison en "ine". Leurs structure chimique de base est un hétérocycle azoté à l'exception de quelques substances dont

lesquelles l'azote est extra cyclique comme le cas de la colchicine et de l'éphédrine. il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (**Judd et al., 2002**).

b. Propriétés biologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques. Ce sont des amers utilisés comme apéritifs (Bruneton, 1999). Ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...) au niveau du système nerveux central; et comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine) au niveau du système nerveux autonome. Ils sont également utilisés comme : hypertenseur (Hydrastine) sur les vaisseaux; antipaludéen (quinine); anesthésiant locaux (cocaïne); combattant de l'excès d'acide urique (colchicine); substance paralysante (curane, caféine); poisons (strychnine, nicotine); stupéfiants (cocaïne, mexaline); cholinergique (pilocarpine); anticancéreux (Taxol, vinblastine et vincristine).

II.2.3. Les composés terpéniques

II.2.2.1.Les saponosides

a. Définition :

Le terme saponosides (mot latin «sapon », savon ; «saponaire », l'herbe à savon), désigne l'ensemble des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmiles substances d'origine végétale (**Robinet**, 1951).

b. Propriétés des saponosides

Les saponosides ont des propriétés anti-inflammatoire et hémolytique; possèdent également des propriétés édulcorantes largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire. Ce sont des expectorants qui rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration (**Bruneton**, 1999).

D'autres études de (**Steinmetz et al., 1993**) ont montré l'effet antifongique de certains saponosides triterpéniques tel que celle des extraits du lierre sur les levures et les dermatophytes. Par ailleurs les saponosides l' α -hédérine ont montré une activité antitumorale et antibactérienne.

II.2.2.2. les huiles essentielles

a. Définition

Les huiles essentielles représentent un ensemble de composés naturels complexes de métabolites secondaires volatils, lipophiles et souvent liquides, ce sont des substances odorantes concentrées obtenues à partir de matières premières d'origine végétale soit par l'hydro distillation, soit par l'entraînement à la vapeur d'eau, ou par l'expression mécanique approprié sans chauffage comme le cas des agrumes. Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16ième siècle par le médecin suisse *Parascelsusvon Hohenheim* pour désigner le composé actif d'un remède naturel. Aujourd'hui ; On recense près de 3000 huiles décrites parmi lesquelles environ 300 sont réellement commercialisées dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali et al., 2008).

b. Composition chimique

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit d'un mélange de constituants variables de structure extrêmement complexe appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les mono-terpènes (myrcéne, β-pinéne, γ-terpinène) et les sesquiterpènes (β-caryophylléne, α-humuléne, β-bisaboléne etc.) (**Croteau et al., 2000**); et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane qui sont beaucoup moins fréquents comme l'alcool cinnamique. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradables mettant en jeu des constituants non volatils comme les acides alcools, aldéhydes, esters, etc.) (**Bakkaliet al., 2008**).

c. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles) ; le rendement en l'huile ; et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Hellal, 2011**). Les principales méthodes d'extraction sont :

• Hydrodistillation

C'est la technique la plus pratique et utilisée souvent par l'appareil de clevenger pour extraire les huiles essentielles, les séparer à l'état pur et de fournir de meilleurs rendements

(Bruneton, 1993 ; Farhat et al., 2010). Elle consiste à immerger directement la matière végétale dans un ballon rempli d'eau puis le mettre à ébullition sous pression atmosphérique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité. En effet, le chauffage prolongé capable d'engendrer la dégradation de certaines molécules aromatiques de ce fait on dit que l'hydrodistillation possède des limites (Farhat et al., 2010).

• Entraînement à la vapeur d'eau

Cette technique est basée sur le fait que le matériel végétal soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation (Afno, 2000). En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux: niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent et niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau (Teuscher et al., 2005).

• Pression à froid

Ce système d'extraction, s'applique qu'aux fruits d'agrumes comme (le citron, l'orange, la mandarine, etc.) par des procédés mécaniques à température ambiante. Il est basé sur la rupture des parois des sacs oléifères. L'essence obtenue est entraînée par un courant de vapeur d'eau froide. Puis séparée par décantation ou centrifugation. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008). Cependant l'utilisation de grande quantité d'eau dans ce procédé peut altérer la qualité des huiles essentielles par dissolution des composés oxygénés, par hydrolyse et par transport de microorganismes (Farhat et al., 2010).

• Autres techniques

Les inconvénients des techniques précédentes suscitent plusieurs laboratoires de recherche d'appliquer des nouvelles techniques d'extraction des huiles essentielles qui sont beaucoup plus utiles, en utilisant des solvants moins toxiques et en petites quantités (**Ferhat** *et al.*, 2010). Parmi ces techniques, on cite : l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons, extraction au CO₂ supercritique, l'extraction par solvant sous pression, l'extraction par la détente instantanée contrôlée, et l'extraction par la flash détente (**Ferhat** *et al.*, 2010).

d. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles occupent une place privilégiée dans la phytothérapie vue de leurs molécules bioactifs qui possèdent un spectre très large de propriétés biologiques. Elles sont capables de servir des signaux chimiques permettant la plante de contrôler et réguler son environnement par leurs effets attractif pour les insectes pollinisateurs (**Deroin**, 1988). Leurs effets défensif contre les insectes prédateurs, les champignons phytopathogènes et les microorganismes et une action répulsive contre les animaux herbivores.

Elles agissent également comme des agents de conservation alimentaire en raison de leurs effets antimicrobien qui est capable d'empêcher la croissance des bactéries et la synthèse de leurs toxines voire même comme des agents dépuratif, cicatrisant, antiseptique pour les poumons et les reins et anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales. Certaines parmi eux exemple : les huiles essentielles de *Ruta graveolens* L. sont utilisés comme des stimulants sur l'utérus et comme des abortifs en cas d'intoxication ainsi comme des sédatifs ou narcotique, relaxant et déstressant au niveau du système nerveux central (**Daniel, 2006**).

Elles sont connues également par d'autres propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antiparasitaires et aussi par des propriétés anti-tumorales qui sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. Ce qui concerne l'activité antioxydante, ces essences agissent comme antioxydants naturels selon deux sortes d'action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les lères sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (Multon, 2002) ; tandis que les 2èmes, sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1996). D'autres études ont montré leurs capacités de conserver les aliments à des phénomènes d'oxydation en les incorporant avec les viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts en les appliquant par vaporisation en surface de l'aliment (Caillet et Lacroix, 2007). Cette propriété suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement des nombreuses maladies notamment le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

I. Généralité sur le stress oxydant

Nos organises cellulaires et tissulaires peuvent être soumis à de nombreuses agressions métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance), physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique) et chimiques (acidose, toxines) et la majorité de ces agressions conduisent à l'apparition de ce qu'on appelle le **stress oxydant**, qui est dû à l'exagération de la production des radicaux libres (Walker et al., 1982). Ce phénomène engendre des dommages graves et immédiats au niveau de l'ensemble des constituants cellulaires (ADN, protéines, et lipides) aboutissant à des modifications structurelles et fonctionnelles, qui sont la base de différentes maladies comme l'athérosclérose, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Favier, 2003).

Le **stress oxydant** est donc défini comme un syndrome ou la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux libres toxiques. C'est un déséquilibre de la balance « prooxydants – antioxydants » C'est-à-dire une surproduction des oxydants et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants.



Figure 7 : Déséquilibre de la balance antioxydants/Oxydants (Morena et al., 2002).

II. Les radicaux libres

II.1.Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules éventuellement peu stables caractérisés par un électron célibataire extrêmement instable sur leurs orbitales externes, ces composés peuvent réagir avec les molécules les plus stables pour apparier leurs électrons. Ils peuvent créer des liaisons avec l'atome d'oxygène ou d'azote, d'où la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS).

II .2. Classification des radicaux libres

Les espèces réactives d'origine de l'oxygène (ERO)

Les ERO constituent une classe importante produite dans les systèmes vivants. Il existe les ERO primaires (radicalaires), qui sont les espèces jouant un rôle particulier en physiologie tel que: Anion superoxyde (O2•¯), radical hydroxyle (•OH), radical hydroperoxyle (HO2•),

Radical peroxyle (RO2•), radical alcoxyle(RO•) et les ERO secondaires qui sont les espèces non radicalaires et peuvent être des précurseurs de radicaux (**Favier**, **2003**). Elles se forment par réaction des ERO primaires sur les composés biochimiques de la cellule, citant : peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), acide hypochloreux (HOCl), Ozone (O₃), Oxygène singulet (1O₂), (**Bonnefont-rousselot et al.**, **2003**).

Les espèces réactives d'origine de l'Azote (EAR)

Les EAR de même, elles incluent des espèces radicalaire comme le monoxyde d'azote (•NO) (**Bonnefont- rousselot et al., 2003**)et des espèces non radicalaires tel que : l'anion peroxynitrite (ONOO) qui est parmi les précurseurs de radicaux libres.

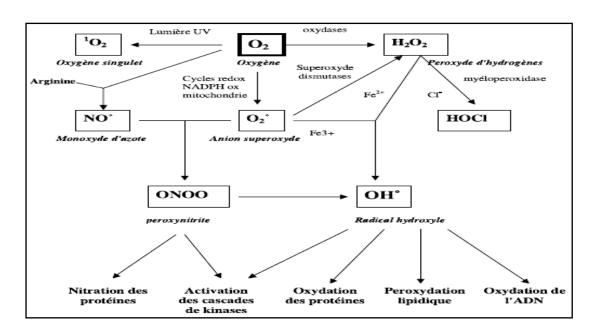


Figure 8 : Mécanisme de production des EOR et EAR impliqués en biologie (**Favier, 2003**).

II .3. Origine de production de radicaux libres

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. L'élévation de la consommation d'oxygène augmente la production des radicaux (Gauche et Hausswirth, 2006). Jusqu'à présent plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés, parmi eux nous citons :

- ✓ Les fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Aurousseau, 2002).
- ✓ Les processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan,2004).
- ✓ Le système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion(Valko et al., 2006).
- ✓ Les expositions à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (**Tamer, 2003**).

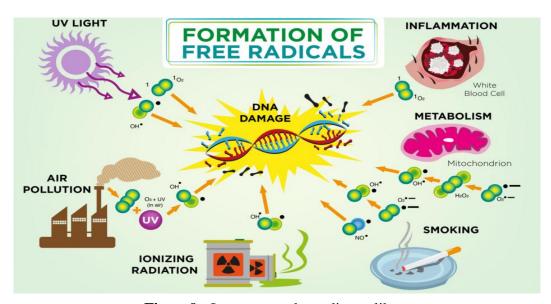


Figure9 : Les sources des radicaux libres

II .4. Principales cibles biologiques et pathologies des radicaux libres

Les RL jouent un rôle physiologique au sein de l'organisme pouvant intervenir dans la modulation de l'activité de certains facteurs de transcription ou dans le processus de phagocytose; mais dans certains cas où les systèmes de défense antiradicalaire physiologiques sont dépassés, soit en raison d'une exagération de la production radicalaire, soit en raison une diminution des défenses; ils peuvent réagir avec des différents cibles cellulaires (ADN, protéines et lipides) et altérer leur bon fonctionnement en dénaturant leurs structures et leurs fonctions(Lacolley et al., 2007).

• **ADN**

La molécule d'ADN constitue une cible cellulaire privilégiée pour les RL; on cite comme exemple La guanine. Cette base nucléique peut réagir avec •OH pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, ce qui conduit à des mutations au niveau de l'ADN et à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng et al., 2007).

Protéines

Les acides aminés possèdent des différentes susceptibilités contre l'action des RL, dont les plus sensibles sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé conduisent à l'oxydation de certains résidus, et aboutissent à l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. Par conséquence ces dommages peuvent entrainer des modifications fonctionnelles importantes par exemple la perte d'activité enzymatique et l'incapacité d'un ligand de connaître leur récepteur. D'autre protéines oxydées sont peu dégradées et forment encore des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng et al., 2007).

• Lipides membranaires

Les lipides et particulièrement leurs acides gras polyinsaturés sont les cible privilégiée de l'attaque du radical hydroxyle HO qui est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) pour un radical diène conjugué. Cette molécule sera oxydé en radical peroxyle (ROO), suffisamment réactif pour arracher un H·à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction, par conséquences, ils aboutissent à une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonénal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Haleng et al., 2007**).

L'ensemble de ces événements entraine le développement d'altération cellulaire qui peut aboutir à des perturbations de fonctionnement de certains organes ; de ce fait les RL sont impliqués dans de nombreuses pathologies. Actuellement on recense plus de 60 maladies

courantes à l'origine des RL, le « tableau 3» représente quelques maladies impliquant par les radicaux libres.

Tableau 3: Quelques maladies impliqués par les RL (Bruce, 2017).

-Maladies	-Hypertrophie de la prostate	-Maladie fibrocystique du sein
de cœur	-Sclérose en plaques	-Maladie d'Alzheimer
-Athérosclérose	-Syndrome prémenstruel	-Maladie de parkinson
-Cancer	-Dysménorrhée	-Insomnie
-Attaque	-Asthme	-Pierres aux reins
cérébrales	-Rhume des foins	-Veines variqueuses
-Diabète	-Allergies alimentaires	-Fatigue chronique
-Psoriasis	-Phlébite	-Hémorroïde
-Eczéma	-Ulcère	-Crise cardiaque
-Acné	-Cataracte	-Mémoire défaillante
-Arthrite		
-Œdème		

II .5. La défense contre les radicaux libres

II .5.1. Les antioxydants

II .5.1.1.Définition des antioxydants

L'organisme produit les radicaux libres, mais il s'en protège aussi avec le plus grand soin grâce à des molécules appelées les antioxydants. Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO.

II .5.1.2. Différents types d'antioxydants

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, on distingue deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de Prévenir le stress oxydatif (**Diplock**, **1991**).

II .5.1.2.1. Les antioxydants enzymatiques (endogènes)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydante (Superoxydes, dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) qui sont élaborés par notre organisme à l'aide de certains éléments minéraux issues des aliments et ils peuvent être également des facteurs spécifiques comme (le glutathion, l'acide-alpha-lipoique, l'acide urique, la coenzyme). Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leurs quantités diminue avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

II .5.1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques (exogènes)

Ce sont des composants qui ne sont pas synthétisés par l'organisme et sont apportés par l'alimentation, tels que :

- -Certaines vitamines : A, C, E et aussi B2 (riboflavine).
- -les composés des fruits et des légumes : caroténoïdes, polyphénols, en particulier les flavonoïdes.
- les oligo-aliments ; qui sont des cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse.

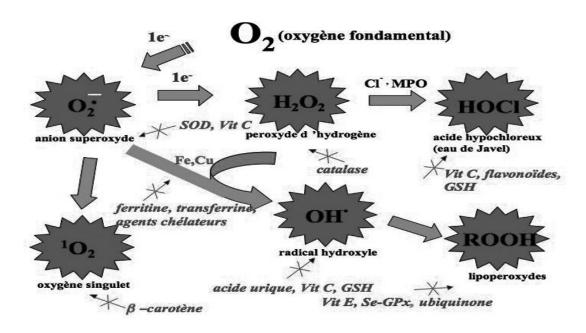


Figure10 : Aperçu des différents antioxydants régulateurs de la production des espèces oxygénées activées (EOA)(**Haleng et al., 2007**).

II .5.1.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Pour limiter les effets délétères des espèces réactives radicalaires et non radicalaires et leurs conséquences physiopathogiques, l'état redox intracellulaire est équilibré par des systèmes antioxydants qui peut défendre contre le radical libre par différentes manières, Leurs mécanismes d'action sont divers, ils peuvent agir : soit par piégeage direct des EOR, soit par désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, soit par réduction de radicaux ou de peroxydes, soit par la chélation des métaux de transition ce qui a pour effet de ralentir les réactions de Fenton (Favier, 2006). Le tableau qui suit représente quelques antioxydants enzymatiques, leurs modes d'action, et leurs intérêts thérapeutique :

Tableau 4: Mode d'action des antioxydants enzymatiques (Arora et al., 2002; Valko et al., 2006).

Nature de	Mode d'action	Prévention contre
l'antioxydant		
Superoxyde dismutase (SOD)	sont des métallo-enzymes, catalysent la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène	l'arthrose, l'asthme, les effets indésirables de la radiothérapie anticancéreuse anti-inflammatoires et est un excellent candidat dans la défense du tissu adipeux contre la fibrose.
Catalase (CAT)	Sont des enzymes majoritairement peroxysomales, catalysent la dismutation du peroxyde d'hydrogène.	Les infections, les maladies cardiovasculaires, les maladies articulaires et déficience mentale.
Glutathion peroxydases (GPX)	Une enzyme à cofacteur de sélénium qui dégrade les peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) en eau.	cancer, vieillissement, les problèmes cardiaques, les maladies du cerveau, l'anémie la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, le diabète et le sida.

Le tableau suivant représente les antioxydants non enzymatiques, leurs modes d'action, leurs intérêts et leurs sources alimentaire principales.

Tableau 5 : mode d'action des antioxydants non enzymatiques (Goudable et Favier, 1997 ; Haleng et al., 2007 ; Karmella et Christine, 2011 ; Anderson et al., 1996).

Nature	Mode d'action	Prévention contre	Les sources
d'antioxydant			alimentaires
	puissant antioxydant, capable de	Les maladies cardiaques,	Noix et graines,
	capter les radicaux peroxyles	le cancer, la prostate, la	huiles, fruits et
Vitamine E	lipidiques RO2 ce qui permet	maladie d'Alzheimer.	légumes.
	d'inhiber la lipoperoxydation dans		
	les cellules et capter également les		
	radicaux superoxydes, les radicaux		
	hydroxyles et l'oxygène singulet.		
	un excellent piégeur des EOR (HO•	Les maladies	Agrumes,
Vitamine C	ou O ₂ • Et inhibe également la	cardiovasculaires,	tomate, melon,
vitamine C	peroxydation lipidique en régénérant	les cataractes, et certains	fraise, kiwi
	la vitamine E à partir de la forme	types de cancer.	poivron, brocoli
	radicalaire issue de sa réaction avec		
	des radicaux lipidiques.		
	Il est précurseur de la vitamine A,	cancer du poumon,	Carotte, patate
Caroténoïdes	réagit avec les radicaux O ₂ •-, ROO•,	et les maladies	douce, courge,
Carotenolues	HO•, soit par l'abstraction	cardiovasculaires.	brocoli, chou
	d'hydrogène, soit par transfert		frisé, épinard,
	d'électron, soit par addition du		fruits : abricot,
	radical		pêche

	agissent : soit par capture directe des	Cancer	Bleuet, cerise,
Flavonoïdes	espèces réactives de l'oxygène, soit		canneberge,
riavonoides	par chélation de métaux de transition		mûre, cassis,
	comme le fer le cuivre, soit par		prune, raisin
	inhibition de l'activité de certaines		rouge
	enzymes responsables de la		
	production des ERO comme la		
	xanthine oxydase.		
	piéger les radicaux hydroxyles,	lymphœdème	Fève tonka,
coumarines	superoxydes et peroxyles, et la		flouve, maïs,
coumarmes	prévention de la peroxydation des		cannelle
	lipides membranaires		
	neutralise les métaux toxiques	Les cancers prostate, du	Céréales
Sélénium		côlon et du poumon	complètes, noix,
Sciemum			oignon, ail,
			volaille, viande

II .5.2.Méthodes d'évaluation de propriétés antioxydante in vitro

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses, elles peuvent être classées en deux groupes les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives.

Les méthodes qualitatives, sont relativement peu nombreuses, utilisées pour repérer l'activité antioxydante de composés, et qui font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. La chromatographie surcouche mince (CCM), est l'une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'agents antioxydants elle donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li et al, 1999). Une autre méthode qui est moins pratique par rapport à l'autre, c'est la méthode à phase reversée de la chromatographie (CCM) qui consiste à la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydante en employant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH) (Maamri., 2008). Et ce qui concerne les méthodes quantitatifs, ce sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'acide

hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (\bullet OH), des anions superoxyde (O_2^{\bullet}), du peroxyle (ROO \bullet) et de l'oxyde nitrique (NO \bullet) (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Parmi ces méthodes, nous citons:

- La méthode de Blanchiment du β-carotène ;
- la méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox);
- la méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants);
- la méthode du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl);
- la méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical totale ;
- la méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) ;
- la méthode de DMPD (Balayage du radical cation N, N- dimethyl-p-phenylenediamine);
- la méthode photochémiluminescence (PCL);
- la méthode d'hémolyse.

II .5.3. Plantes médicinales douées d'activité antioxydante

Actuellement, les antioxydants naturels présents dans les plantes médicinales font l'objet de plusieurs recherches scientifiques vues de leur capacité à prévenir l'organisme contre le stress oxydatif qui est le facteur primordial de l'apparition de plusieurs maladies notamment : Les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et certains types de cancer. Parmi les plantes médicinales connues par leur activité antioxydante, nous citons quelques exemples. Le « tableau 6 » résume l'activité antioxydante mesurée in vitro de certains extraits de plantes médicinales.

Tableau 6: Exemple de quelques plantes médicinales douées de l'activité antioxydante

Plante	Famille	Test utilisé	Organe testé	Extrait utilisé	Effet antiradical aire	Référence
Olivier sauvage Olea europaea	Oléacées	DPPH	Feuille	Méthanolique	IC50= 0,24mg/ml	Arab et al.,2013
Pituranthos à balai Pituranthos scoparius	Apiacées	DPPH	partie aérienne	Aqueux	IC50= 45 μg/ml	Adida et al., 2017
Grenadier Punica granatum	Lythracées	DPPH	Ecorce	Aqueux	IC50= 0.094mg/ml	Ricci et al., 2006
Pourpier maraîcher Portulaca oleracea	Portulacacées	DPPH	Plante complète	Méthanolique	IC50= 12.67μg/l	Sanja et al., 2009
Moringa Moringa oleifera	Moringacées	DPPH	Racine	extrait eau/méthanol 80%	Réduction de 62.9%	Sultana et al., 2009
mangrove à boutons Conocarpus erectus	Combretacées	DPPH	Fruit	extrait n- butanol	IC50= 4μg/ml	El-Sayed et al., 2012
Stévia Stevia rebaudiana.	Asteracées	DPPH	Feuille	Ethanolique	IC50= 268,31 μg/mL.	Hebi et Eddouks, 2016
gourde épineuse Momordica dioïca	Cucurbitacées	DPPH	Fruit	Méthanolique	Réduction de 81.73%	Bharathi et al., 2013
Movingui Disthemonantus benthamianus	Fabacées	DPPH	Feuille	Méthanolique	IC50= 4,50μg/ml	Bidie et al., 2011
Germandrée tomenteuse Teucrium polium	Lamiacées.	DPPH	Feuille	Méthanolique	IC50= 22μg/ml	Ghazghazi et al.,2013
Echinops Echinops Spinosus	Astéracées	FRAP	Partie aérienne	acétate d'éthyle	DO= 2,85	Gheffour et al., 2015

Calamintha Saturéja calamintha	Lamiacées	FRAP	Feuille	Méthanolique	C = 2,5mg/ml	Bougandoura et Bendimrad, 2013
marrube Marrubium vulgare L.	Lamiacées	Blanchis sement du β- carotène	Feuille	Méthanolique	PI= 63,77 %	Ghedadb, 2014
Armoise Artemisia campestris	Asteracées	Blanchis sement du β- carotène	Partie aérienne	acétate d'éthyle	PI=89,32%	Boudjouref, 2011
Aubépine Crataegus monogyna Jac	Rosacées.	Blanchis sement du β- carotène	la partie charnue du fruit	dichlorometh anique	AAR=48.46 % d'inhibition	Bouzid et al.,2011
Pied de bœuf Piliostigma thonningii	Fabacées	ABTS+	Ecorce	hydro- éthanoliques	IC50= 39,3 ± 1,00 μg/ml	Dieng et al.,2017

I. Présentation de la famille des Astéracées

I.1.Introduction

Le terme« Aster » du grec signifie étoile, désigne la forme étoilée de la fleur (Harkati,2011). La famille des astéracées (Asteraceae) connues également sous le nom de composacées (Compositae) est une importante famille de plantes dicotylédones. Elles s'acclimatent dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées à l'exception des pôles, elle comprend près de 23 000 espèces réparties en 1 500 genres (Harkati, 2011). Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces (Quezel et Santa, 1963). Une d'entre elles est étudiée dans ce travail « Sonchus oleraceus ».

Cette famille comporte de nombreuses plantes économiquement importante dues à leurs activités antioxydantes, anti inflammatoires et antimicrobiennes. elle fournit des plantes alimentaires (La laitue, l'artichaut, l'endive, la salsifis, la chicorée, l'estragon et le tournesol), des plantes ornementales (la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster), des plantes qui fournissent des insecticide (le Pyrèthre), et des plantes qui sont utilisées en pharmacie (l'Arnica, la camomille le tussilage) et d'autres qui sont utilisées comme plantes médicinales et dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi (les armoises) (Gaussen et Leroy, 1982).

I.2. description botanique des Astéracées

Les Astéracées sont une famille très importante dans la flore d'Algérie, ces espèces sont souvent des plantes herbacées, et parfois représentés par des arbres, des arbustes ou des lianes. Elles sont Caractérisés par des fleurs appelées aussi fleurons qui sont soudés par leurs anthères en capitule c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncule, sur l'extrémité élargie d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales appelées involucre. Leurs feuilles sont généralement alternes, simples, mais elles peuvent être divisées chez certaines espèces. Leurs fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus.

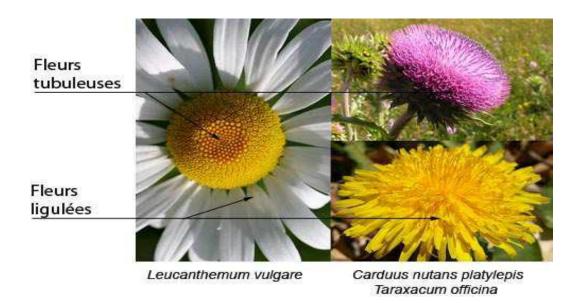


Figure 11 : Types de fleurs des Astéracées (Boutaghane, 2013).

I.3. Systématique des astéracées :

La classification classique des astéracées (Mezache, 2010) est représentée comme suit :

Règne: Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement: Phanérogame (Phanérogames)

Sous-embranchement: Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe: Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Asteraceae (Compositae)

II. Présentation de la plante « Sonchus oleraceus L. »



Figure 12: la plante Sonchus oleraceus L.

II.1. Nomenclature de la plante :

Nom vernaculaire: Laiteron maraîcher, Laiteron potager, Laiteron commun, lastron (Fr).

Nom en arabe : Tifaf (تِفاف) , el hindibaa el berry (الهندباء البرية) , el haliba (الحليبة) , el haliba (الحليبة

Nom en anglais : Annual sowthistle

Nom Scientifique: Sonchus oleraceus L.

II.2. Systématique de la plante :

Règne : Plantae

Sous -règne : Tracheobionta

Super division: Spermatophyta.

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous -classe: Asteridae

Ordre: Asterales.

Famille : Asteraceae / Compositae - Famille Aster.

Genre: Sonchus L.

Espèce: Sonchus oleraceus L.

II.3. Description botanique:

« Sonchus oleraceus L.» communément connue sous le nom le laiteron maraîcher, est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle atteignait 1,4m de haut. Les tiges sont creuses, côtelées, simples, ou ramifiées inclinées de couleur vert foncé, et parfois teintée avec du pourpre rougeâtre, possédant une surface lisse et glabre, elles produisent un liquide blanc le (latex) en cas de section.



Figure 13 : la tige de Sonchus oleraceus



Figure 14 : les feuilles de *Sonchus oleraceus*

Elle porte des feuilles alternes, simples et distales, avec des limbes lancéolés ou oblancéolés, profondément pennatilobé avec quelques lobes dentés, et une base embarrassante formant des oreillettes aigues.

Les fleurs sont bisexuées, ligulées et jaune regroupées en capitule, de 6-7,5mm de long. Les fruits sont des *akènes* comprimés légèrement aplati, côtelé, rugueux, atteignant 4 mm de long, à Pappus blanc de 7-8 mm de long



Figure 15 : les fleurs et les akènes de *Sonchus oleraceus*

II .4. Origine et répartition géographique

Le laiteron maraicher est originaire d'Eurasie et du nord de l'Afrique. Actuellement il est devenu un adventice cosmopolite, on les rencontre principalement dans les endroits perturbés, dont des terres agricoles, des champs abandonnés et des champs récemment brulés, jusqu'à 2650m d'altitude

II .5. Effets et usages thérapeutiques

Sonchus oleraceus est une excellente plante médicinale utilisée pour traiter de nombreuses maladies :

- ✓ Les racines sont utilisées comme purgatif, abortif et vermifuge en médecine tanzaniennes et madagascarienne.
- ✓ Les jus de ses feuilles sont utilisés en chine, Tanzanie, Nouvelle-Zélande dans le traitement de mal d'oreille et en Europe occidentale pour traiter la surdité en cas où il ya des quantités excessives de cérumen.
- ✓ Les feuilles sont utilisées pour supprimer les infections, et également comme sédatif, stomachique, diurétique pour traiter les maladies du foie, dont l'hépatite.
- ✓ Le latex est utilisé en chine pour soigner la dépendance à l'opium et pour traiter les verrues et le cancer.
- ✓ Traitement des problèmes oculaires, la gastrite, les salmonelloses, la kwashiorkor et l'anémie.
- ✓ D'autres usages médicinaux sont les traitements de diarrhée, d'hématurie, et de prolapsus du vagin.
- ✓ Aliment favori des lapins et des volailles, utilisé également comme fourrage pour le bétail.

II .6. Travaux antérieurs

Une étude coréenne a examiné l'activité antioxydante in vitro de *Sonchus oleraceus* L., des extraits alcooliques et aqueux par des essais du pouvoir réducteur, avec la méthode de piégeage des radicaux hydroxyles (HRSA) et de piégeage des radicaux 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). L'extrait de MeOH à 70% avait le plus grand pouvoir réducteur, tandis que l'extrait à l'EtOH avait le plus grand HRSA. L'activité antioxydante des extraits de S. oleraceus était en fonction de la concentration et les valeurs de IC50 allaient de 47,1 à

210,5 μ g / ml, les IC50 des extraits de MeOH, d'extrait aqueux et d'EtOH étaient respectivement de 47,1, 52,7 et 56,5 μ g / ml. L'extrait de MeOH de S. oleraceus contenait la plus grande quantité de composé phénolique et de flavonoïde. Les extraits testés ont eu de plus grands effets de piégeage des nitrites dans des conditions de valeurs basses de pH. L'activité cytotoxique a montré que l'extrait d'EtOH avait la meilleure activité contre la croissance des cellules cancéreuses de l'estomac. Ces résultats suggèrent que l'extrait de S. oleraceus pourrait être utilisé comme source potentielle d'antioxydants naturels (**Jie Yin et al.,2007**).

Une autre étude publiée en 2018 sur le même journal a montré que le *Sonchus oleraceus* n'était ni hépatotoxique ni néphrotoxique. Le prétraitement révèle un effet néphroprotecteur dans un modèle I / R. (d'ischémie-reperfusion) chez les rats Wistar (**Liliana Torres-González et al., 2018**).

Un article publié récemment a englobé tous les travaux réalisés sur cette plante et a montré que le *Sonchus oleraceus* a un pouvoir antioxydant anti-inflammatoire, antimicrobien antidiabétique et anxiolytique ainsi, l'auteur a mené une étude pour établir la composition chimique de la plante, selon cette étude le *S. oleraceus* contient une variété de composés phytochimiques tels que les lactones, sesquiterpéniques du eudesmanolides, des flavonoïdes, des flavonos, des proanthocyanidines, des phénols, des saponines et des alcaloïdes et contient une forte concentration d'acides gras, vitamine C, caroténoïdes, acide oxalique et composés minéraux. La littérature révèle que divers phytoconstituants ont été isolées entre autres quatre nouveaux sesquiterpènes et cinq glycosides. Parmi les composés isolés on trouve : la glucozaluzanine C, le macrocliniside A, le crépidiaside de A et picrisides B, Apigénine, Lupeol et acide bétulinique, acide ursolique et α -amyrine, Acide olénolique et bêta-amyrine (AbhijeetV.Puri et al., 2018).

I. Matériel végétal

I.1.Origine géographique et période de récolte de la plante

La présente étude s'est portée sur la plante médicinale « *Sonchus oleraceus* » poussant à l'état spontané à l'ouest algérien. La récolte a été effectuée durant le mois de mars 2019, dans la région de la rocade, Commune de Mansourah dans la wilaya de Tlemcen.

Tableau 7 : Situation géographique de la station d'étude.

Station	Latitude	Longitude	Altitude	Nature du	Climat
	(N)	(O)	(m)	sol	
Rocade	34,885847	1,350576	843	Terre fertile agricole	sec

I.2. Identification botanique

L'espèce a été identifiée par le professeur Hassani F. du laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen (Algérie).

I.3. Préparation des échantillons

Le travail a été effectué sur la partie aérienne (tiges, feuilles, fleures) et les racines de la plante qui ont été séchés à l'air libre, à l'ombre et à température ambiante pendant quelques jours avant de faire les manipulations.



Figure 16: Feuilles, tiges, fleurs, et racines de Sonchus oleraceus.

II. Extraction des principes actifs

II.1.Les extraits bruts

II.1.1.Préparation des extraits bruts

Dans cette étape nous avons utilisé la partie aérienne et les racines de la plante étudiée, l'extraction a été effectuée en utilisant deux solvants de polarité différente (l'eau et l'éthanol) selon deux procédés : la macération à température ambiante et sous reflux, en manipulant ces deux procédés pour les deux parties de la plante nous avons obtenu quatre extraits bruts et secs après évaporation et séchage du solvant.

- Extrait aqueux par macération et sous reflux (partie aérienne).
- Extrait éthanolique par macération et sous reflux (partie aérienne).
- Extrait aqueux par macération et sous reflux (racine).
- Extrait éthanolique par macération et sous reflux (racine).

II.1.1.1. Extraction sous reflux

a. Epuisement du matériel végétal (partie aérienne/ racines) avec de l'eau

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 20g de la partie étudiée de la plante découpée en morceaux a été mis en contact avec 150 ml d'eau distillée. Le mélange a été porté à reflux pendant 2h, après filtration, nous avons obtenu une solution aqueuse (couleur marron) qui a été évaporée à moitié sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 70°C. Le résidu obtenu a été versé dans une boite à pétri et mis à l'étuve à 40 °C pour un parfait séchage.



Figure 17: Montage de reflux.

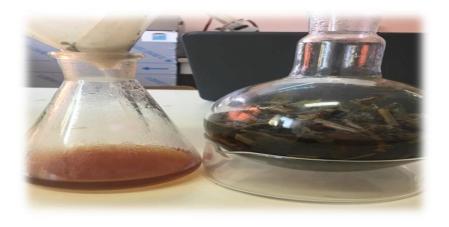


Figure 18: La solution aqueuse de la partie aérienne

b. Epuisement du matériel végétal (partie aérienne/racines) avec de l'éthanol

20g de partie aérienne/racines découpé en morceaux a été mis en contact avec 150 ml de l'éthanol dans un ballon surmonté d'un réfrigérant. Le mélange a été également porté à reflux pendant 2h, puis filtré. Après filtration, on obtient une solution éthanolique (couleur verte) qui a été évaporée à demi sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 50°C. Le résidu demi sec obtenu a été mis dans une boite à pétri et séché dans l'étuve à 40 °C.



Figure 19: solution éthanolique de la partie aérienne



Figure 20: solution éthanolique des racines

II.1.1.2. Extraction par macération à température ambiante

a. Macération à l'eau

Dans un erlenmeyer, mettre 20g de la matière végétale (partie aérienne/racines) avec 150 ml d'eau, puis laisser macéré sous agitation pendant quelques heures voire 2 jours. Après l'extraction le mélange est filtré, puis évaporé à demi sec à 70°C et séché dans l'étuve sur une boite de pétri à 40 °C.

b. Macération à l'éthanol

20g de la matière végétale (partie aérienne/racines) a été mis en contact avec 150 ml d'éthanol, le mélange a été macéré pendant 2jours, puis filtré et évaporé à demi sec à 50°C et enfin séché dans l'étuve à 40 °C sur une boite de pétri.

II.1.2. Calcul du rendement des extraits bruts

Le pourcentage en extrait bruts sec éthanolique et aqueux a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 x 100$$

Avec: R (%): Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀: Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

II.1.3.Les analyses qualitatives et quantitatives réalisés sur les extraits bruts

II.1.3.1. Les analyses qualitatives (tests phytochimiques)

Les quatre extraits préparés selon chaque méthode font l'objet d'une étude phytochimique qui consiste à détecter les différentes familles de métabolites secondaires existants dans ces extraits par des réactions qualitatives de caractérisations. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés .

A. Les flavonoïdes

Traiter quelque millilitre de chaque extrait avec quelques gouttes d'HCL concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une couleur rouge-rose.

B. Les tanins

Un volume de 1 ml de chacun des extraits, est additionné à 2ml d'eau et 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ diluée. Après quelques minutes, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques.

C. Les hétérosides

1ml de chaque extrait, est mélangé avec 2ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge marron de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques.

D. Les anthracénosides

Traiter 8ml de chaque extrait par le réactif de borntrager (solution basique NaOH). Un test positif est mis en évidence par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé-rouge au violet pourpre.

E. Les coumarines

Dissoudre quelques milligrammes de chaque extrait dans 2 ml d'eau chaude. Diviser la solution obtenue en deux parties égales dont :

- La première représente un témoin.
- La deuxième est traitée avec 0.5 ml de NH₄OH à 10%.

Mettre deux taches sur un papier filtre et les examinées sou la lumière U.V une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

F. Les anthocyanosides

Doser la solution de chaque extrait avec une solution de NaOH. S'il y a un virage de couleur à pH différent ceci indique la présence des anthocyanosides.

- pH<3 la solution prend une coloration rouge / 4<pH<6 la solution prend une coloration bleu.

G. Stérols et stéroïdes

Essai 1

Traiter quelques millilitres des solutions obtenues par extraction avec 10 ml de chloroforme anhydre. Mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique. Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter, puis laisser la solution reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (Maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C).

Essai 2

Dissoudre le résidu obtenu après évaporation des extraits dans 0,5 ml d'anhydre acétique et 0,5 ml de chloroforme, puis filtrer. Traiter le filtrat par la réaction de Liebermann-Burchardt. Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement.

➤ **Réaction de Liebermann-Burchardt :** 5 ml de la solution à tester est mélangée avec 5ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acides sulfuriques concentré. Puis, agiter et laisser en repos pendant 30 min à 21 °C.

H. Composés réducteurs

Traiter 1ml de chaque extrait avec 2ml d'eau distillée et 20 goutes de la liqueur de Fehling puis chauffer, l'apparition d'un précipité rouge brique indique que le test est positif.

I. Les alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : ajouter 5 ml d'HCl 1% à 1ml de chaque extrait, chauffer le mélange au bain marie, puis le filtrer et le diviser en deux volumes égaux. Traiter le premier avec quelques gouttes du réactif de Mayer, l'autre avec le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit:

- ➤ **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1.358 g d'HgCl₂ dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et compléter jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.
- ➤ **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1.27 g de I₂. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

J. Amidon

Chauffer 5 ml de chaque extraits avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition puis ajouter le réactif d'amidon. Le test est positif lorsque la solution résultante est de couleur bleue violacée.

K. Saponosides

Dans un tube à essai mettre un peu de macérât aqueux et éthanolique en contact d'eau distillée. Agiter d'une manière forte pendant quelques secondes puis le laisser en repos quelques minutes. La présence d'une mousse persistante nous révèle la présence des saponosides.

II.1.3.2. Les analyses quantitatives : Dosage des composés phénoliques (par le test du fer ferrique)

Principe

Ce test consiste à la réduction de fer ferrique en fer ferreux par les tanins et d'autres composés phénoliques ce qui conduit à la formation d'un complexe ferrocyanure ferrique appelé « bleu prusse » qui absorbe à 720 nm (Martin et Larry, 1977).

Protocole

Dans des tubes à essais stériles, 1ml d'extrait aqueux de la matière végétale (Partie aérienne/Racine) a été introduit, puis on a ajouté 3ml de la solution de FeCl₃ (0,1 N), avec 3ml de K3Fe(CN) 6. Les tubes sont agités soigneusement, puis incubés pendant 1 min à la température ambiante, les mesures d'absorbance (DO) sont effectuées à 720 mn. Par ailleurs, le criblage spectrophotomètre a été réalisé en utilisant un blanc préparé de même protocole précédent en remplaçant 1ml d'extrait par 1ml d'eau distillée.

• Expression des résultats

Une solution d'acide gallique a été préparée par différentes concentrations pour tracer une courbe d'étalonnage. A partir de cette courbe, on détermine la concentration de notre échantillon en composés phénoliques par rapport à la matière sèche.

Partie expérimentale : Matériel et Méthodes

 $CP (\% MS) = [C \times V/P] \times 100$

C : Concentration en composés phénoliques de l'extrait en (mg/ml).

V : volume d'eau distillé utilisé en (ml).

P: prise d'essai (mg).

CP: composés phénoliques.

%CP (%MF)=CP (%MS) x %MS/100

%MS: la teneur en matière sèche en %

%MF: la teneur en matière fraiche en %

II.2.Extraction des tanins

II.2.1. Préparation d'extrait de tanins

L'extraction des tanins a été effectuée selon deux étapes :

1^{ère} étape

Consiste à dégraisser le matériel végétal (partie aérienne). Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 50g de la matière végétale découpée en morceau en présence de 150 ml d'éther de pétrole. Porter l'ensemble à reflux pendant 2h. Puis filtrer et évaporé le solvant. Le résidu obtenu sous forme d'un résidu pâteux représente la matière grasse.

2^{ème} étape

50g de matière végétale dégraissée a été mis en contact avec 250ml d'eau distillée et 160ml d'acétone dans un ballon de 500 ml surmonter d'un réfrigérant à reflux. L'ensemble a été porté à une macération pendant 4 jours. Puis filtrer, et après élimination de l'acétone, la solution a été extraite deux fois avec 50ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Ensuite nous avons décanté et extrait la phase aqueuse quatre fois avec 50ml d'acétate d'éthyle et on laisse sécher sur Na₂SO₄ ensuite on évapore le solvant à sec.

50



Figure 21: Extraction avec le dichlorométhane. Figure 22 : Extraction avec l'acétate d'éthyle.

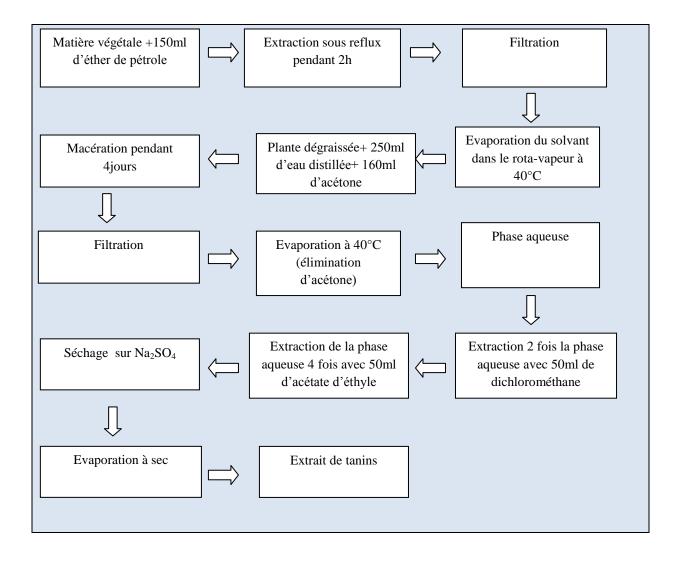


Figure 23: Protocole d'extraction des tanins.

Partie expérimentale : Matériel et Méthodes

II.2.2. Calcul du rendement des tanins

Le pourcentage en tanins est calculé par la formule :

 $R(\%) = (M/M_0) \times 100$

R: Rendement des tanins en (%).

M : Masse en grammes de l'extrait sec résultant.

M₀: Masse en grammes du matériel végétal obtenu après dégraissage.

II.3. Extraction d'huile essentielle

II.3.1.préparation de l'extrait d'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation de la partie aérienne de la plante, à l'aide d'un appareil de type Clevenger. 140g de matière végétale (partie aérienne) séchées et découpées en morceaux sont soumis à une hydrodistillation dans un dispositif de type Clevenger pendant quatre heures. Les vapeurs chargées d'huiles en traversant un réfrigérant se condensent. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

Les huiles essentielles obtenues sont conservées à -4°C.

II.3.2. Calcule de rendement des huiles essentielles

Le pourcentage en huile essentielle est calculé par la formule :

 $\mathbf{R} (\%) = (\mathbf{MHE/MMV}) \times 100$

Avec: MHE: masse en grammes de l'huile essentielle obtenue

MMV : masse en grammes de la matière végétale utilisée

52

III. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la plante

III.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

C'est une activité du piégeage des radicaux libre qui est mesurée en utilisant le DPPH comme un radical libre ce dernier est relativement instable et absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm.

• Principe

Ce test consiste à la réduction de radial libre DPPH (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine, par des antioxydants dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. La forme réduite (diphénylpicryl-hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance.

Figure 24: Equation du radical DPPH transformé en DPPH/H (Talbi et al., 2015).

protocole

préparation de la solution de DPPH :

0,006 g de DPPH a été pesé dans une fiole jaugée de 100 ml, puis complété jusqu'au trait de jauge par l'éthanol (0,0006g/l ou 0,6 mg/l). Le mélange a été placé dans un bécher sous agitation afin d'avoir une solubilité parfaite, puis conservé à l'abri de la lumière dans un flacon opaque et à une température basse pour empêcher sa dégradation.

- Préparation de dilutions dans l'éthanol.
- le dosage :

Dans des cuves colorimétries 1ml de la solution éthanolique de DPPH a été ajouté dans 1ml de différentes dilutions des extraits de plante. Le mélange obtenu a été ensuite gardé à l'abri de la

lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1ml de la solution de DPPH et de 1ml de l'éthanol.

Les échantillons des extraits bruts, de l'huile essentielle et de tanins, ainsi le témoin de l'acide ascorbique sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible.

• Expression des résultats

Le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous : Pourcentage d'inhibition :

$$PI\% = \frac{AbsC - AbsE}{AbsC} \times 100$$

Où : Abs E : absorbance de l'échantillon.

Abs C: absorbance du contrôle.

La variation du pourcentage d'inhibition nous permet de réaliser une courbe d'étalonnage avec laquelle on détermine les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC50). La valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.



Figure 25 : Spectrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance.

III.2.Méthode de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

• Principe

Ce test consiste à réduire du Fe³⁺présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe²⁺ en présence des antioxydants. La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe³⁺) en une couleur bleue verte du fer ferreux (Fe²⁺) qui indique la présence des antioxydants. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Figure 26: Réaction de la méthode FRAP (prior et al., 2005).

• protocole

> Préparation des solutions :

- -Solution de trichloroacétique **TCA** (10%) : 10 g de TCA a été mis dans une fiole jaugée de 100 ml et complété par l'eau distillée.
- -Solution de chlorure ferrique **FeCl₃** (0,1%): 0,1g de FeCl₃ a été solubilisé dans l'eau distillée dans une fiole jaugée de 100 ml.
- -Solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1%): 1g de $K_3Fe(CN)_6$ a été solubilisé dans l'eau distillée dans une fiole jaugée de 100 ml.
- -Solution tampon : on mélange 28,39g de NaH₂PO₄ solubilisé dans 1L d'eau distillée avec 23,99g de Na₂HPO₄ solubilisé également dans 1L d'eau distillée dont le pH=6,6.
- > préparations des dilutions par l'éthanol

le dosage :

Dans des tubes à essai on introduit 1ml de chaque dilution des extraits de la plante, on ajoute 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M, PH= 6,6), et 2,5ml d'une solution du

ferricyanure de potassium (1%). Après agitation, les tubes sont incubés à 50°C pendant 20min. Après l'incubation, on ajoute à chaque tube 1ml d'une solution de TCA (10%) pour stopper la réaction, on centrifuge le mélange à 3000 tpm pendant 10 minutes et puis on le laisse reposer pendant 10min. Enfin on prend 1ml de surnageant de chaque tube, on ajoute 2,5ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de FeCl₃ (0,1%).La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 700 nm. Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant (éthanol).

La synthèse bibliographique entreprise au début de ce travail a permis de constater que les connaissances des composés phytochimiques de *Sonchus oleraceus* L. étant très peu étudiés Par ailleurs, une demande croissante de trouver d'éventuelles nouvelles molécules antimicrobiennes d'origine naturelle afin de remplacer les antibiotiques et antiseptiques actuels face auxquels les micro-organismes ont développés des résistances, de remplacer les additifs et conservateurs synthétiques utilisés en agroalimentaire ou en cosmétique tels que l'hydroxyanisolebutylé (BHA, E 320) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT, E 321) ou les parabènes qui se sont révélés nocifs pour la santé humaine.

Dans ce contexte, les objectifs de cette étude sont multiple, faire des extractions pour les deux parties de la plante et par différents solvants et différentes méthodes (partie aérienne, racines, eau, éthanol, à chaud, à froid et hydrodistillation), réaliser un criblage phytochimique des différents extraits bruts, estimer le pourcentage des polyphénols contenant dans chaque organe de la plante et évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts, des tanins, et d'huile essentielle.

L'extraction aqueuse et éthanolique de la partie aérienne et des racines de la plante a été réalisé selon deux protocoles de macération sous reflux et à température ambiante, dans le but d'évaluer l'impact de la méthode d'extraction sur le rendement des extraits bruts, et d'évaluer la présence des principes actifs et tester l'activité antioxydante des différents extraits de la plante.

Dans ce travail nous avons obtenu quatre extraits de différents aspects pour chaque méthode (sont identifiées dans la partie expérimentale précédente). Ce qui nous a permis de déterminer les rendements des extraits bruts secs « tableau 8 »et faire les analyses phytochimiques « tableau 9 et 10 »des phases aqueuses et éthanolique afin de déceler la présence des composés phytochimiques contenus dans les extraits testés et par conséquent dans la plante étudiée.

I. Rendement en extraits bruts secs

Tableau 8 : Les masses et les rendements obtenus d	des différents extraits brut de la plante.	
---	--	--

Méthode	Les extraits de la plante	Masse	Rendements
			(%)
	EA(PA)	4,0071	20,03
Sous-reflux	EE(PA)	2,6633	13,31
	EA(RA)	1 ,7083	8,5415
	EE(RA)	1,0150	5,08
	EA(PA)	2,4983	12,49
Macération à froid	EE(PA)	2,1100	10,55
	EA(RA)	0,5860	2,98
	EE (RA)	0,1575	0,787

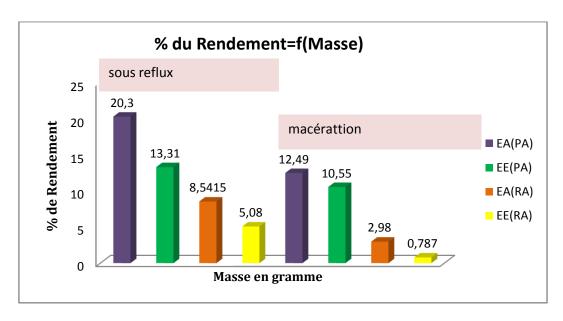


Figure 27 : Rendements des différents extraits de la plante.

Les résultats obtenus pour les extraits préparés sous reflux, montrent que les rendements les plus élevés sont celles des extraits de la partie aérienne dont le rendement de l'EA (20,03 %) est supérieur à celui de l'EE (13,31%), suivie par les rendements de l'EA et l'EE des racines de (8,54%) et (5,08%) respectivement.

Par ailleurs, la méthode de macération à température ambiante a montré des rendements classés de mêmes ordres de celles de la méthode à chaud mais avec des pourcentages faibles par rapport à cette dernière. Dont l'EA(PA) a révélé le rendement le plus élevé, suivie par l'EE(PA), l'EA(RA), et EE(RA) qui sont de 12,48 %; 10,55 %; 2,98, et 0,787% respectivement.

Il a été confirmé que pour les extractions à température élevée permettait d'obtenir des rendements des extraits bruts plus élevés que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante (Majhenic et al., 2007); et ça ce qui est en accord avec notre résultat qui a montré que les rendements en extraits sec étaient significativement plus importants avec la technique d'extraction sous reflux que la technique de macération qui se fait à une température ambiante En outre, on a remarqué que les rendements des extraits de la partie aérienne sont plus élevés par rapport aux racines.

Donc d'une manière générale, les rendements des extraits bruts varient non seulement d'une plante à une autre mais également en fonction des paramètres d'extraction : la température, le solvant d'extraction, type de la partie végétale étudiée.

La détermination des rendements nous permet non seulement d'estimer les extraits totaux issus de la plante, mais également de prélever la quantité d'organes qu'on a besoin pour une éventuelle étude similaire; ce qui rendrait l'utilisation rationnelle et durable de l'espèce étudiée.

II. Composition des extraits bruts en métabolites secondaires

Le travail en laboratoire a porté essentiellement sur une étude analytique destinée à la caractérisation des principaux groupes chimiques contenus dans la plantes étudiée.

Les tests phytochimiques sont une analyse qualitative qui permet à mettre en évidence les différentes familles de composés existants dans cette plante. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Les résultats expérimentaux de nos extraits mentionnés dans le « tableau9 et 10 » montrent la présence ou l'absence de certains composés chimiques.

Tableau 9 : Tests phytochimiques des extraits sous reflux de la plante.

Classes recherchées	EA (PA)	EE (PA)	EA (RA)	EE (RA)
Flavonoïdes	+	-	ı	-
Tanins	+	+	+	+
Hétérosides	+	+	+	-
Stéroïdes	+	+	ı	-
Alcaloïdes	-	-	ı	-
Composés réducteurs	+	+	+	+
Saponosides	+	-	+	-
Anthracénosides	-	+	+	+
Coumarines	+	-	-	-
Anthocyanosides	-	+	-	+
Amidon	-	-	-	-

Tableau 10 : Tests phytochimiques des extraits par macération à température ambiante.

Classes recherchées	EA (PA)	EE (PA)	EA (RA)	EE (RA)
Flavonoïdes	+	-	1	-
Tanins	-	+	ı	-
Hétérosides	+	+	+	-
Stéroïdes	+	+	1	-
Alcaloïdes	-	-	ı	-
Composés réducteurs	+	-	+	+
Saponosides	+	-	+	-
Anthracénosides	-	+	+	+
Coumarines	+	-	-	-
Anthocyanosides	-	+	-	+
Amidon	-	-	-	-

Cette analyse nous a permis de détecter l'impact de la méthode d'extraction sur la présence de certains métabolites secondaires.

Les résultats de cette manipulation indiquent clairement la présence des tanins en abondance dans tous les extraits sous reflux qui sont confirmés par l'apparition d'une coloration verte noirâtre ce qui indique la présence des tanins galliques et une absence dans les extraits par macération à l'exception de l'extrait éthanolique de la partie aérienne qui a relevé un test positif.



Figure 28 : Différence entre l'extrait aqueux par macération et sous reflux dans la détection des tanins.

Les résultats montrent également la richesse de la plante en hétérosides qui sont confirmés par une couleur rouge marron dans la couche d'interface de tous les extraits à chaud et à froid, à l'exception de l'extrait éthanolique des racines qui a révélé un test négatif, et la présence de composés réducteurs qui sont indiqués par la formation d'un précipité rouge brique dans tous les extraits préparés mis à part l'extrait éthanolique de la partie aérienne par macération à froid.

Concernant les flavonoïdes, les stéroïdes et les coumarines, les tests relèvent leurs présences que dans la partie aérienne; et pour les autres métabolites secondaires (les anthracénosides, les anthocyanosides, et les saponosides) les tests montrent leurs présences dans certains extraits et leurs absences dans d'autres; alors que l'amidon et les alcaloïdes sont totalement absents dans la plante étudiée. Ces résultats ne sont pas en accord avec les travaux menés par (Maria Antonia Gatto et al., 2011); qui ont montré la richesse de cette plante par les flavonoïdes et les travaux de (Jimoh et al .,2011); qui ont révélé la présence prépondérante des alcaloïdes. Cette variabilité de composition phytochimique peut être liée aux facteurs biotiques et abiotiques sur la synthèse des métabolites secondaires par les plantes. (Bourgaud, 2012) a démontré qu'il existe plusieurs facteurs externes pouvant influencer la composition chimique des métabolites secondaires comme : le sol, les agents pathogènes, la température, la lumière et le taux d'humidité.

Par ailleurs, en comparant entre les différents extraits, nous avons constaté que l'extrait aqueux de la partie aérienne sous reflux possède la plus haute teneur en métabolites secondaires suivie par l'extrait éthanolique donc la partie aérienne a relevé des teneurs en métabolites secondaires plus importantes et considérables que les racines.

En générale nous avons constaté que tous les extraits de la plante étudiée, sont riches en composés phénoliques en particulier la partie aérienne mais avec des quantités différentes, et que les extraits par la méthode sous reflux ont enregistré des teneurs en polyphénols très importantes en comparant avec celles de la macération à froid.

D'une manière générale, le contenu phénolique dans les extraits de la plante varie en fonction de la technique d'extraction, le type d'organe étudié et le type de solvant d'extraction utilisé. (Chirinosetal., 2007). Ils ont indiqué que la solubilité élevée de métabolites secondaires dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus et ça ce qui est en accord avec nos résultats qui ont montré des meilleurs teneurs en métabolites secondaire dans l'extrait aqueux vue de sa polarité.

• Conclusion

L'analyse phytochimique basé sur les tests spécifiques a permis de détecter les différentes familles co-existantes dans la plante. En effet, elle a prouvé que les tanins, les hétérosides et les composés réducteurs sont présents en quantité importante, alors que les autres métabolites secondaires ne semblent présents que dans certains extraits de la plante, elle a montré également que la partie aérienne de notre espèce est très variée point de vue composition par rapport aux racines. Ces familles de composés peuvent être à l'origine de la découverte de nouveaux principes actifs élaborés dans la fabrication de médicament.

III. Pourcentage des polyphénols

Pour estimer le pourcentage des polyphénols contenant dans cette plante, nous avons tracé une courbe d'étalonnage d'acide gallique « figure 29 » pour différentes concentrations « tableau 11 » et puis nous avons introduit deux paramètres :

Détermination de la concentration en composés phénoliques de nos extraits en utilisant la courbe de régression linéaire « figure 29 » :

$$y = ax + b$$

Où y = moyenne de DO des extraits

x : la concentration en composés phénoliques des extraits

Tableau 11 : Absorbance de l'acide gallique en fonction des différentes concentrations.

Nombre	0,1 mg/ml	0,05 mg/ml	0,033 mg/ml	0,025mg/ml	0,020 mg/ml
d'essai [C] mg/ml					
D.O. 1 ^{er} essai	0,181	0,015	0,033	0,126	0,093
D.O. 2ème essai	0,324	0,278	0,203	0,112	0,062
D.O. 3ème essai	0,366	0,294	0,144	0,164	0,074
D.O.moyenne	0,292	0,195	0,153	0,134	0,076

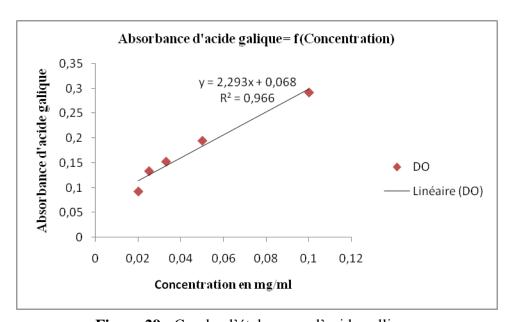


Figure 29 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

➤ Calcul du pourcentage de composés phénoliques en matière sèche et fraiche selon les équations décrites dans la partie expérimentale. L'ensemble des résultats obtenus sont résumés dans le « tableau 12 ».

Tableau 12 : Pourcentage en composés phénoliques des extraits aqueux de la partie aérienne et les racines de la plante en fonction de concentrations.

	Extrait aqueux de la partie aérienne (0,6 mg/ml)	Extrait aqueux des racines (1mg/ml)
D.O.1 ^{er} essai	0,155	0,121
D.O.2ème essai	0,576	0,115
D.O.3ème essai	0,330	0,074
D.O.moyenne	0,353	0,103
C mg/ml	0,124	0,0152
CP (% MS)	41	5,06
%CP (%MF)	8,2123	0,43

Les résultats analytiques montrent que la teneur la plus élevé en composés phénoliques est dans la partie aérienne, à une concentration de 0,6 mg/ml, nous avons estimé un pourcentage en matière sèche et fraiche atteint 41% et 8,212 % respectivement, et une concentration de polyphénols égale à 0,124 mg/ml. Tandis que les racines, à une concentration de 1 mg/ml nous avons obtenus un pourcentage très faible en composés phénoliques égale à 5,05 % dans la matière sèche et 0,43% dans la matière fraiche avec une concentration en polyphénols de 0,0152 mg/ml. Ceci est en corrélation avec les résultats phytochimiques précédentes qui ont montré la présence des composés phénoliques dans les deux parties de la plante, avec une prédominance dans la partie aérienne.

IV. Rendement de tanins et la matière grasse

Après la mise en évidence des différents composés dans les parties étudiées de la plante, nous avons ciblé la famille la plus prépondérante dans cette dernières, et la plus connue par leurs propriétés antioxydantes afin de l'extraire, d'estimer son rendement et d'évaluer son activité antioxydante.

Dans la première étape nous avons procédé au dégraissage de la matière végétale (la partie aérienne) à fin d'éliminer tous les pigments et les lipides qui peuvent freiner le processus d'extraction, le rendement obtenue de la matière grasse est décrit dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Rendement de la matière grasse.

La masse de la plante	La masse de la matière grasse	Rendement
50g	1g	2%

Après le dégraissage de la matière végétale, nous avons choisi d'extraire les tanins avec le protocole décrit dans la partie expérimentale. Le résidu sec obtenu a donné un test positif avec le réactif spécifique des tanins « figure 29 », les masses utilisés et le rendement trouvé sont résumés dans le tableau qui suit « tableau 14 ».



Figure 30 : Détection des tanins par le Réactif Chlorure ferrique FeCl_{3.}

Tableau 14 : Rendement de l'extrait sec des tanins.

La masse de la plante	La masse de résidu sec	Rendement
50g	0,0687g	0,138 %

V. Rendement de l'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles à partir de la partie aérienne par hydrodistillation au moyen d'un extracteur de type Clevenger (Extraction solide-liquide) a fourni une huile essentielle ayant une coloration jaune blanchâtre et qui a donné un rendement très faible décrit dans le tableau suivant :

Tableau 15: Rendements de l'huile essentielle.

La masse de la plante	La masse de l'huile essentielle obtenue	Rendement
140g	0,089g	0,063%

VI. Pouvoir antioxydant des extraits de Sonchus oleraceus

VI. 1.Piégeage du radical libre DPPH (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante des différents extraits de la plante « *Sonchus oleraceus* » vis àvis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de nos extraits préparés (extraits bruts, les tanins, l'huiles essentielle), nous avons tracé une courbe d'étalonnage réalisée par le témoin d'acide ascorbique « figure 31 » (connue par son pouvoir antioxydant) afin de les comparer avec ce dernier.

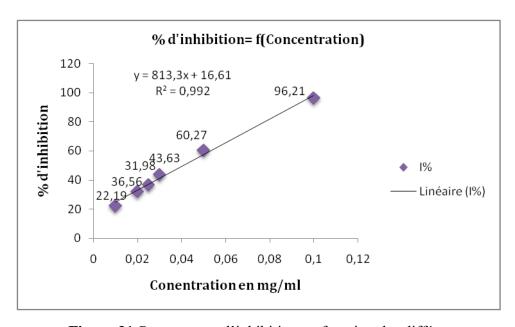


Figure 31:Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

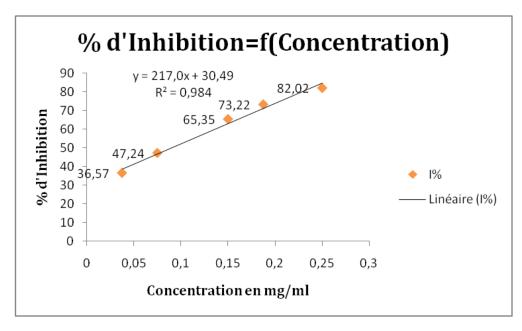


Figure 32 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait des tanins.

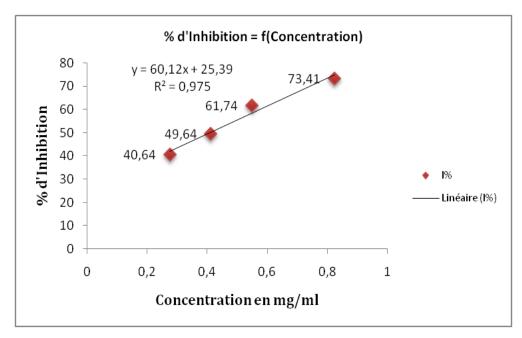
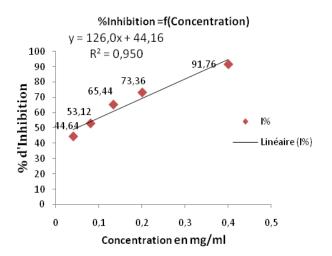
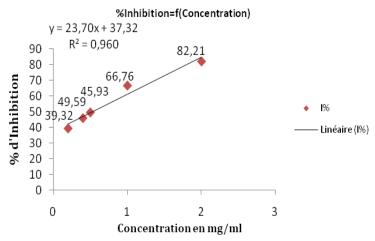


Figure 33 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle.



A : Evaluation de l'activité antioxydante l'EA(PA)

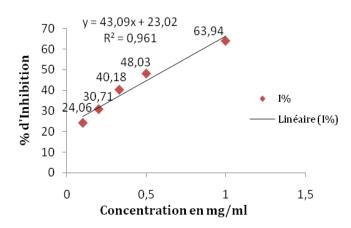
Sous reflux.



B: Evaluation de l'activité antioxydante l'EA (PA)

Par macération.

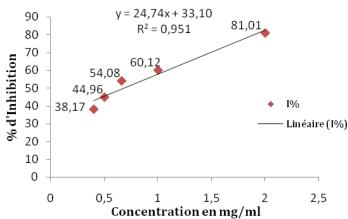
%Inhibition=f(Concentration)



C: Evaluation de l'activité antioxydante de l'EA (RA)

Sous reflux.

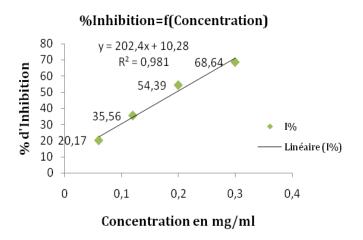
%Inhibition=f(Concentration)

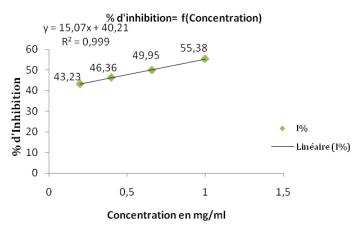


D: Evaluation de l'activité antioxydante de l'EA(RA)

Par macération.

Figure 34 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de différents extraits aqueux de la plante.



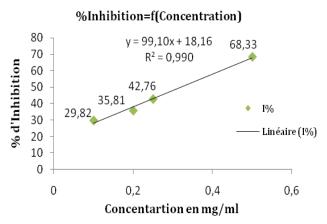


E: Evaluation de l'activité antioxydante l'EE(PA)

Sous reflux.

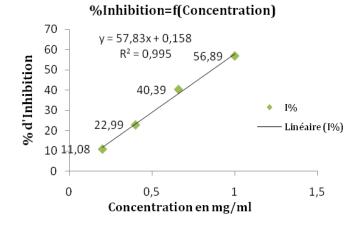
F: Evaluation de l'activité antioxydante l'EE(PA)

Par macération.



G: Evaluation de l'activité antioxydante l'EE(RA)

Sous reflux.



H: Evaluation de l'activité antioxydante l'EE(RA)

Par macération.

Figure 35 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de différents extraits éthanolique de la plante.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres :

✓ Détermination des IC50 des extraits

La valeur IC50 (concentration inhibitrice à 50%) est déterminée pour les extraits bruts, les tanins, l'huile essentielle et le témoin acide ascorbique. Elle est définie comme étant la concentration du substrat qui neutralise (réduit) 50% de radical libre (DPPH), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour diminuer 50% de l'absorbance de la solution de DPPH. Les IC50 sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (**Villano et al., 2007**). La valeur IC50 de chaque extrait a été estimée en utilisant la courbe de régression linéaire :

$$y = ax + b$$

Où y = 50% (pourcentage de réduction de DPPH).

x : IC50 (la concentration en extrait et de l'acide ascorbique).

✓ Calcul du pouvoir antiradicalaire (ARP) : il est inversement proportionnel à l'IC50.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante exprimée En IC50 et leur ARP est représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 16: Valeurs des IC50 et le pouvoir antiradicalaire (PAR) des différents extraits de la plante.

	Extraits	IC50 (mg/ml)	ARP
Sous reflux	EA (PA)	0,046	21,73
	EE(PA)	0,19	5,55
	EA(RA)	0,62	1,63
	EE(RA)	0,32	3,125
Macération	EA (PA)	0,53	1,96
	EE(PA)	0,64	1,54
	EA(RA)	0,68	1,47
	EE(RA)	0,86	1,16
	Tanins	0,08	12,5
	Huile essentielle	0,401	1,88
	Acide ascorbique	0,041	24,39
			•

Selon les résultats obtenus dans le « tableau 16», et la comparaison entre les courbes d'étalonnages (A et B), (C et D),(E et F),(G et H) de la « figure 34 et 35 ». nous avons constaté que les extraits de la méthode sous reflux représentent les IC50 les plus élevées avec des concentrations moins faibles par rapport à ceux de la macération ceci est logique et en corrélation avec nos résultats phytochimiques précédente qui ont prouvé que les extraits sous reflux possèdent des teneurs en métabolites secondaire très importantes en les comparant avec les extraits de la macération.

Concernant la différence de l'activité antiradicalaire au DPPH entre les extraits bruts, elle peut être expliquer par le pouvoir des composés phénolique qui peuvent exister dans une partie de la plante et pas dans une autre, En outre plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en polyphénols du matériel végétal et sa capacité antioxydante(Burda et Oleszek, 2001) et ça ce qui est en accord avec :

- Les résultats phytochimiques précédentes qui ont montré que l'EA de la PA sous reflux possède la plus haute teneur en métabolites secondaires suivie par l'EE de la PA sous reflux.
- et **les résultats analytiques** qui ont montré également que l'EA de la (PA) sous reflux représente l'extrait le plus actif, avec une concentration inhibitrice à 50% égale à 0,046 mg/ml et un pourcentage d'inhibition qui atteint jusqu'à 91,71% « figure 34 " A" », suivie par l'EE (PA) sous reflux de 0,19 mg/ml d'IC50 et un pourcentage d'inhibition varie entre (68,64 20,17) « figure 35 "E" ».d'autre études menées par (**JieYin et al .,2011**) ont montré que la concentration inhibitrice (IC 50) les plus basses était dans les extraits méthanolique à 70% et l'extrait aqueux dont la concentration était de (47,1 et 52,7)μg / ml respectivement , suivi par l'extrait éthanolique de 56,5 μg / ml) et ça ce qui est en accord avec notre étude qui a montré que l'extrait aqueux est plus puissants par rapport à l'extraits éthanolique. Une autre étude effectué par (**Jimoh et al., 2011**) a démontré que les capacités d'extrait aqueux de *S. oleraceus* à 1 mg /ml étaient de 92,9% légèrement inférieures à celles de acide ascorbique(100%) et supérieurs à celle des extraits de l'acétone et le méthanol de 56,1% et 86,9% respectivement, ce qui est également en corrélation avec les résultats de notre étude.

De plus, nous avons remarqué que les concentrations inhibitrices de l'acide ascorbique et l'extrait aqueux de la partie aérienne sous reflux étaient un peu similaires de 0,041 mg/ml et 0,046mg/ml respectivement de ce fait on peut considérer l'extrait aqueux de la partie aérienne comme un puissant antioxydant.

Par ailleurs, En comparant entre les courbes (A et C), (E et G), (B et D), (F et H) nous avons remarqué que les extraits de la partie aérienne de la plante possèdent une activité

antioxydante élevée par rapports à celles des racines. Ce qui indique que la partie aérienne a un usage efficace par rapport aux racines, ceci peut s'expliquer par la composition chimique de chaque partie de la plante.

D'une manière générale, la différence dans l'activité antiradicalaire au DPPH entre les extraits dépend de leur composition en différents composés phénolique, et la technique d'extraction utilisée.

Et concernant les autres extraits, l'extrait des tanins a montré un effet antiradicalaire de 12,5 avec une concentration inhibitrice à 50% égale à 0,08mg/ml, cette activité est très importante mais relativement faible que celle de l'acide ascorbique et de l'extrait aqueux de la partie aérienne sous reflux « figure 32». Tandis que l'extrait de l'huile essentielle enregistre une capacité antioxydante très faible dont la concentration qui permet d'inhiber 50% des radicaux libre égale à 0.401 mg/ml supérieure à l'IC50 d'acide ascorbique avec une activité anti radicalaire de 1,88« figure 33 ».

2-Pouvoir réducteur du fer : Test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

L'activité antioxydante des différents extraits éthanolique et aqueux de la plante a été également évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est une analyse simple, rapide et reproductible, basée sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺, cette réaction se manifeste par l'apparition de la couleur bleu mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'extrait Possède un grand pouvoir réducteur.

Dans notre travail nous avons opté pour tester les différents extraits de chaque partie de la plante étudiée. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats de l'activité réductrice des extraits qui sont représentés dans les figures suivantes nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

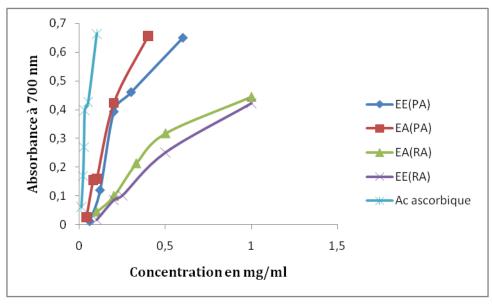


Figure 36 : Pouvoir réducteur des extraits obtenus par reflux et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP.

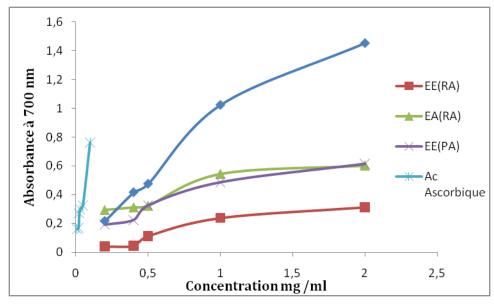


Figure 37 : Pouvoir réducteur des extraits obtenus par macération et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux de la partie aérienne représente le meilleur pouvoir réducteur de fer avec une concentration de 0,4 mg/ml nous avons enregistré une densité optique de l'ordre de 0,656 plus ou moins similaire à celle de l'acide ascorbique (DO = 0,664) mais à la concentration de 0.1 mg/ml, suivi par l'extrait éthanolique de la partie aérienne de concentration 0,6mg/ml et une DO=0,650, suivi par les extrait aqueux et éthanolique des racines de concentration égale à 1mg/ml et de densité optique égale à 0,444

et 0,422 respectivement « figure 36 ».Donc nous pouvons déduire que tous les extraits de *Sonchus oleraceus* ont la capacité pour réduire le fer mais les extraits de la partie aérienne (plus précisément les extraits aqueux) sont plus efficaces que ceux des racines. Nous pouvons classer la puissance de réduction de fer des différents extraits de reflux comme Suit :

Acide ascorbique >EA(PA)>EE(PA)>EA(RA)>EE(RA)

Et concernant les résultats des extraits de la macération « figure 37 » nous avons obtenu la même tendance que ceux des extraits par reflux mais avec des concentrations plus élevées par rapport à ces derniers. À une concentration de 2mg/ml nous avons enregistré des densités optiques de l'ordre 1,454 pour l'EA (PA) ; 0,615 pour l'EE (PA) ; 0,602 pour l'EA (RA) ; et 0,311pour l'EE (RA). Donc nous pouvant déduire que les extraits sous reflux sont capables de réduire le fer avec des concentrations de l'ordre de 1/10ème que celles des extraits par macération qui sont moins efficace.

Ces résultats nous ont permis de conclure que les extraits par reflux s'avèrent plus puissant vis-à-vis de réduction de fer par rapport à ceux par macération, ainsi que la partie aérienne est plus efficace que les racines que ça soit par la méthode de reflux ou la méthode de macération à température ambiante dont l'extrait aqueux donne toujours des DO supérieurs que celui de l'extrait éthanolique.

Le pouvoir réducteur des extraits de l'espèce *Sonchus oleraceus* est probablement dû aux teneurs en composés phénoliques et leurs groupements hydroxyle qui peuvent servir comme donneur d'électron. Selon (**Siddhuraju et Becker, 2007**) les antioxydants peuvent être considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. D'autres études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Yang et al., 2008**).

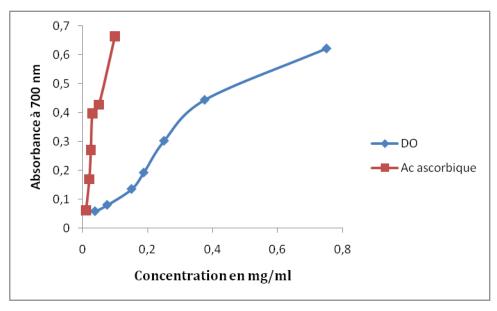


Figure 38: Pouvoir réducteur des tanins et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP.

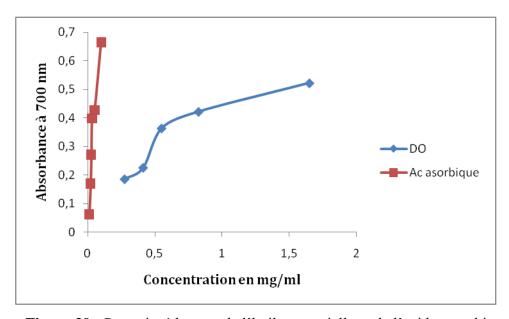


Figure 39 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP.

Nous avons remarqué dans les graphes illustrés dans la « figure 38 » que la capacité à réduire le fer d'extrait des tanins de la partie aérienne de l'espèce *Sonchus oleraceus* est importante de concentration 0,75 mg/ml et de densité optique 0,622 mais relativement faible à celle de l'acide ascorbique de concentration 0,1 mg/ml et de densité optique égale à 0,664.

Par ailleurs l'huile essentielle a enregistré un pouvoir réducteur très faible de concentration égale à 1,6483 mg/ml et une densité optique de 0,522 inferieur à celle de l'acide-ascorbique« figure39 ».

Partout dans le monde l'intérêt de la médecine à base des plantes médicinales s'accroit constamment et plus particulièrement dans les pays en voie de développement. Aujourd'hui, Les plantes médicinales occupent une place très privilégiée dans l'art médicale non seulement grâce aux effets secondaires néfastes induits par les médicaments chimiques, mais aussi grâce à leurs sources inépuisables de substances bioactives qu'elles procurent. Ces molécules sont très recherchées en phytothérapie pour leurs vertus thérapeutiques et leurs effets biologique au niveau de l'organisme comme l'effet antioxydant.

De ce fait, l'objectif primordial assigné par notre étude était la contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits de la plante médicinale « *Sonchus oleraceus* » poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen et appartient à la famille des Astéracées, l'une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels. Dans ce contexte nous avons consacré notre travail en premier axe à l'extraction des extraits bruts de la partie aérienne et des racines de la plante, en utilisant deux solvants de polarités différentes (EtOH et l'eau distillée) et deux modes d'extraction à température ambiante et à chaud (sous reflux) afin d'évaluer l'impact de la méthode d'extraction. Nous avons obtenues quatre extraits distinguées par leurs couleurs et leurs aspects dans chaque méthode.

Dans la seconde partie, nous avons estimé les rendements en pourcentage de chaque extrait. À la première vue nous avons constaté que l'extraction sous reflux représente des bons rendements par rapport à l'extraction par macération à froid et que l'extrait aqueux de la partie aérienne sous reflux possède le rendement le plus élevé de (20,3%), suivi par l'extrait éthanolique de la partie aérienne sous reflux de (13,31%). En parlant des différents solvants utilisés, nous avons remarqué toujours que l'extrait aqueux donne des meilleurs rendements par rapport à l'extrait éthanolique que ça soit par la méthode de macération ou par la méthode sous reflux. Par railleur, point de vue organe étudié nous avons constaté que la partie aérienne de la plante donne des meilleurs rendements par rapport aux racines.

Dans le troisième point, nous avons mis en évidence les différents composés chimiques existants dans cette plante par un criblage phytochimique. Les résultats obtenus ont indiqué la richesse de notre espèce en métabolites secondaires en particulier les tanins, les hétérosides et les composés réducteurs et que l'extrait aqueux de la partie aérienne sous reflux possède la plus haute teneur en métabolites secondaires suivie par l'extrait éthanolique de la

partie aérienne sous reflux ainsi nous avons remarqué que la partie aérienne donne des meilleures teneures en métabolites secondaire en comparant avec les racines, et ça ce qui était en corrélation avec les tests quantitatives qui ont révélés les pourcentages les plus élevés en composés phénoliques de 41% et 8,212 % dans la matière sèche et fraiche de la partie aérienne respectivement.

Dans le 4eme axe nous avons opté à l'extraction de deux métabolites secondaires : les tanins vus de leurs abondances dans cette plante voire même leurs effets antioxydants et les huiles essentielles. Avec 50g de plante nous avons estimés 2% de matière grasse et 0,138% d'extrait sec des tanins. Et concernant les huiles essentielles nous avons obtenu un rendement très faible de 0,063% avec une masse de plante égale à 140g.

En dernier, nous avons évalué l'activité antioxydante des différents extraits de la plante selon deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer. Les résultats de la méthode dite DPPH ont montré que tous les extraits de la plante manifestent une activité antioxydante considérable en particulier les extraits obtenus par reflux vue leurs richesse en métabolites secondaires, ils ont relevé également que l'extrait aqueux de la partie aérienne est le plus actif avec un pourcentage d'inhibition qui atteint jusqu'à 91,71% et une IC50 égale à 0,046 mg/ml un peu similaire à celle du standard acide ascorbique (0,041mg/ml), suivi par l'extrait éthanolique de la partie aérienne avec une IC50 égale à 0,19 mg/ml et un pourcentage d'inhibition entre (68,64—20,17) et pour les résultats du FRAP, ils ont relevé également que les extraits par reflux s'avèrent plus puissant vis-à-vis de réduction de fer par rapport à celle de macération, ainsi ils ont montré que la partie aérienne est plus efficace par rapport aux racines dont l'extrait aqueux présente le meilleur pouvoir réducteur de fer avec une concentration de 0,4 mg/ml et une densité optique de l'ordre de 0,656,suivi par l'extrait éthanolique de la partie aérienne de concentration de 0,6mg/ml et DO=0,650.donc une corrélation positive entre l'activité antioxydante et la teneur en métabolites secondaires a été remarqué.

Ce qui concerne l'extrait des tanins il a prouvé un effet antiradicalaire de 12,5 avec IC50 égale à 0,08mg/ml, cette activité est très importante mais relativement faible à celle de l'acide ascorbique. Cependant l'extrait d'huile essentielle a révélé un pouvoir antioxydant très faible égale à 1,88 avec une IC50 de 0,401 mg/ml.

En fin, les antioxydants naturelles provenant de notre espèce « *Sonchus oleraceus* » peuvent être très utiles pour affermir l'organisme dans le cas de situation de stress oxydatif et de prévenir les différentes pathologies induites par les attaques radicalaires.

Abhijeet Puri V., PrakashKhandagale D. and Yunus AnsariN. A review on Ethnomedicinal, Pharmacological phytochemical aspects of *Sonchus oleraceus* LINN.(ASTERACEAE). *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2018; 8 (3):01-09 P.

Adida H., Benariba N., Bechiri A., Chekroun E., Djaziri R. Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*. 2016; 14: 207-212 p.

Afnor. Huiles essentielles, Echantillonnage et méthode d'analyse .Monographie relative aux huiles essentielles. Monographie relative aux huiles essentielles Ed. *PARA Graphic* .2000 ; 2 : 663 P.

Alain dit Philippe B., Banga N'Guessan B., Adou Yapo F., Jean N'Guessan D. and Allico Joseph D. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*. 2011; (1): 1 – 11 p.

Alilou H. Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du sud du Maroc : *Asterisus graveleolens* subsp. Odorus (Schousb.) Greutter et Asteriscusimbricatus (Cav.) DC. Thèse de doctorat. Universitéd'Agadir. 2012.

Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T. Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug.Res.* 1996; 28: 65-180 P.

Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K. Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science*. 2013 ; 09(3):159 – 166 p.

Arif T., Bhosale JD., Kumar N., Mandal TK., Bendre RS., Lavekar S. et Dabur R. Natural products-antifungal agents derivedfrom plants. *J. Asian Nat. Pro. dRes.* 2009; 11 (7): 626 – 638 p.

Arora A., SairamR. K. andSrivastava C.G. Oxydative stress and antioxydative system in plants. *CurSci*.2002; 82: 1227-1230 p.

Aurousseau B. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA *Prod. Anim.* 2002 ; 15 (1): 67-82 p.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D.,Idaomar M. Biological effects oils. *A review Science Direct Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46: 446-475p.

Bassene E., Mahamat B., Lo m.,Boye C.S., Faye B. Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C.micranthum, Guierasenegalensis* et *Terminaliaavicennioides. Fitoterapia.* 1995 ; 66(1):86-87p.

- Bessas A.,Benmoussa L., Kerarma M. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Faculté des sciences, Sidi Bel Abbes. 2007.
- Bharathi L. K., Singh H. S., Shivashankar S., Ganeshamurthy A. N., Sureshkumar ProcP. Assay of Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Three *Dioecious momordica* Species of South East Asia. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*. 2014;84(1):31-36 p.
- Bidie A.P., Banga B., Adou F., Yapo I., Jean N'guessan D., and Allico Joseph Djaman. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne *Sciences & Nature*. 2011; 8 (1): 1 11p.
- **Birt D.F., Hendrich S., Wang W.** Dietary agents in cancer prevention: Flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol.Ther.* 2001; 90 (3): 157-177p.
- Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudeux J.L., Thérond P., Legrand A. and Delattre J. Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2002; 16: 260-267p.
- **Bossokpi P.L.** Etude des activités biologiques de *Fagaraxanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, (Bamako).2002 ; 133p.
- **Boucher F., Martin C.** Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Nutrition*. 2008; 138: 747-752 p.
- **Boudjouref M.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbes, Sétif.2011.
- **Bougandoura N., Bendimerad N.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.Nepeta (L.) Briq. Revue *Nature & Technologie B- Sciences Agronomiques et Biologiques*.2013; 9 :14 -19p.
- **Boutaghane N.** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales algériennes *Genistaulicina* Spach (*Fabaceae*) et *Chrysanthemum macrocarpum*(SchBip) Coss et Kralik ex Batt (*Asteraceae*). Thèse doctorat : Pharmaco-chimie.Université de Constantine. 2013 ; 158 p.
- Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C., et. Ayachi A. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Aubepine aubepine*. *Lebanese Science Journal*. 2011; 12(1).
- **Bravo L.** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 1998; 56 (1): 317-333 p.
- **Bruce Fife N. D., Conrado S., Dayrit MD**. CURES DE NOIX DE COCO: Prévenir et guérir les problèmes de santé usuels avec la noix de coco. Piccadilly Books, Ltd. 2017; 256p.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed. Lavoisier; Paris. 1993; 274-285p.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales: Techniques et Documentation; 3ème Ed. Lavoisier; Paris. 1999; 199-388 p.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Edition Tec et Doc*.2008; 199-339 p.

Caillet S et Lacroix M. Les huiles essentielles leurs propriétés antimicrobienne et leurs applications potentielles en alimentaire. *INRS-INSTITUT ARMAND-FRAPPIER*. 2007; 1-8 p.

Chaabi M., Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoc laBaill.* (*Euphorbiaceae*), *Anogeissus liocarpus* Guill. Etperr. (*Combrétaceae*), *Limonia strumfeei* (*Girard*) *Batt.* (*Plumbaginaceae*). Thèse de doctorat en pharmacochimie, Université, Louis Pasteur Alger et Université MENTOURI de Constantine. 2008 ; 179-180 p.

Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., LarondelleY. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolumtuberosum*Ruiz et Pavon) tubers. Separation and Purification Technology. 2007;55 (2): 217-225 P.

Clifford M.N., Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden, *J. Sci. Food Agric*. 2000; 80:1063-1072 p.

Cohen S. Y., Souied, E and Quentel, G. Dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) / Myopie et étiologies de la néovascularisation choroïdienne. Edition Lavoisier. *Médecine science*. 2014; 77.

Gonzalez A. G. et Estevez-Braun A. Coumarins, Nat. Prod. Reprod. 1997; 14: 465-475 p.

Cottiglia F., Loy G.,Garan D., Floris C., Casu M., Pompei R., Bonsignore L. Antimicribial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedecine*.2001; 8(4): 302-305 p.

Cowan M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents *Clin.Microbiol. Re*.1999; 12 (4): 564-582 p.

Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G., Buchanan B., Gruissem W., Jones R. Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and Molecular of plants. *American Society of Plant Physiologist.* 2000; 1250-1268 p.

D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., &Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann. Ist. Super Sanità*. 2007; 43(4): 348 – 361 p.

Deroin T. Biologie florale d'une Annonacée introduite en Côte d'Ivoire : Canangaodorata (Lam.) Hook.f. & Thoms. Bull. *Musée National Histoire Naturelle*. 1988; 10(4):377-393 p.

Descheemaeker K. Nutri-et Phytotherapie : Developpements Recents. Edition Garant. 2003; 12-46 p.

- **Di Carlo G., MascoJo N., Izzo A.A., Capasso F.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 1999; 65(4): 337-353 p.
- **Diplok A.T.** Antioxydant nutriments and disease prevent i on: an Overview. *A m JClin Nutr*. 1991; **53**:189-93 p.
- **Eberhard T., Robert A., Annelise L.** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France. 2005; 521 p.
- **El-Rhaffari L., Zaid A.,** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes. 2004; 293-318p.
- El-Sayed S. Abdel-Hameed, Salih A., Bazaid Mohamed M. Shohayeb, Mortada M. El-Sayed and Eman A. El-Waki., Phytochemical Studies and Evaluation of Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Properties of *Conocarpus erectus*. European Journal of Medicinal Plants. 2012; 2(2): 93-112 p.
- **Farhat A.**, Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes: Conception, Optimisation et Application. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. 2010 ; 136 p.
- **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 2003 ; 108-115 p.
- **Gauche E., Hausswirth C.** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*. 2006 ; 58 : 43-66 p.
- **Gaussen H., Leroy F.** Précis de botanique (Végétaux supérieurs), 2ème édition. 1982 ; 424-426 p.
- Ghazghazia H., Aouadhi C., Abderrazak M., et Hasnaoui B. Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie Microbiol. *Hyg. Alim.* 2013 ; 25(73).
- Ghedadb N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S., Moulo Y. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L, *Phytothérapie* .2014 ; 12:15-24 p.
- **Gheffour K., Boucherit K., Boucherit-Otmani Z.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits *d'Echinops spinosus*. *Phytothérapie*. 2015 ; 13:288-294 p.
- Goudable J. et Favier A. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Laboratoire de biochimie C. hôpital Edouard. Herriot. Lyon. GREPO. Université de Grenoble. La Tronche.1997.
- **Grubben G.J.H. et Denton O.A.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 2 : Légumes. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas / BackhuysPublishers, Leiden Pays-Bas / CTA, Wageningen, Pays-Bas. 2004; 737 p.

- **Hager T. et Howard L.** Berry fruit phytochemicals. Berry Fruit, CRC Press.2009.
- **Hagerman A.E.** Tannin Chemistry: Condensed Tannin Structural Chemistry. Tannin Handbook.Miami University. 2002; 116 p.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne, J. O., Charlier C. and Chapelle J. P.** Le stress oxydant. *Revue Medical de Liege*. 2007; 62(10): 628-38.272 p.
- **Harbone J.B.** Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed; Academic Press: London. 1993; 317 p.
- **Harkati B.** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille *Asteraceae*: *Scorzone raundulata*. Thèse doctorat : Chimie organique : Constantine : Université de Mentouri Constantine. 2011 ; 4-5 p.
- **Havsteen B.H.,** The biochemistry and medical significance of the flavonoids; *Pharmacol. Therapeut.* 2002; 96: 67–202 p.
- **Hebi M., Eddouks M.** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*. 2016 ; 14:17-22 p.
- **Heimeur N., Idrissi Hassani L.M., Amine Serghini M.** Les polyphénols de *Pyrusmamorensis* (Rosaceae); *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2004;3 (1): 37-42 p.
- **Hellal Z.,** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (Sardinapilchardus), Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri deTizi-Ouzou.2011.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 2004 ; 1: 3-6 p.
- **Hennebelle T.** Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota Pseudodictamnus* (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. Ecole Doctorale Sciences de la Matière du rayonnement et de l'Environnement. France.2006.
- **Hodek P., Trefil, P., Stiborova, M.** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.* 2002; 139: 1–21 p.
- **Hong X.Y., Wan M., Dong H., But P.P.H., Foo L.Ycap.** Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 *protease*.Biological and *Pharmaceutical* Bulletin.2000; 23(9): 1072-1076 p.
- **HOPKINS W. G.** Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris. 2003 ; 514 p.

- **Iserin P.** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, DorlingKindersiey Limited, Londres. 2001.
- **Jean-Jacques Macheix.** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 2005 ; 192p.
- **Jie Yin, Gu-Joong Kwon**, and **Myeong-HyeonWang**. The antioxidant and cytotoxic activities of *Sonchus oleraceus* L. extracts *Journal ListNutr Res Pract*v. 2007; 1(3): 189–194 p.
- **Jimoh F.O., Afolayan AJ.** Comparison of the nutritive value, antioxidant and antibacterial activities of Sonchus asper and *Sonchus oleraceus*. *Records of Natural Products*.2011; 5(1):29 P.
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F.** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique; *1ère Edition De Boeck Université*; *Paris*, Bruxelles. 2002; 383p.
- **Karmella L.A.,and Christine, L.H.** Xanthine oxidase inhibition of selected philippine medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5: 289-292 p.
- **Kaur S.J., Grover I.S., Kumar S.** Modulatory effects of tannin fraction isolated from Terminalia arjunaon the genotoxicity of mutagens in Salmonella typhimurium, *Food and Chemical Toxicology*.2000; 38(12):1113-1119 p.
- **Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F., et Samuel J.L.** Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Edition *John LibbbeyEurotext*, Paris. 2007; 312 317 p.
- Lamblin F., Hano C., Fliniaux O., Mesnard F., Fliniaux M. A., Lainé E. Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. Medcine/Sciences. 2008; 24 : 511-9 p.
- **Lansky E.P., Harrison, G., Froom, P., Jiang, W. G.** Pomegranate (Punicagranatum) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. Investigated New Drugs, 2005; 23:121-2 p.
- **Lee K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y.** Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J.Agric. Food Chem.* 2005; 53: 1990-1995 p.
- Leray C. Les lipides dans le monde vivant. Edition Lavoisier TEC & DOC. 2010; 5
- **Li C.Y., Jackson R.M.,** Reactive species mechanisms of cellular hypoxiare oxygenation *Physiol.-Cell Physiol.* 2002; 282: C227–C241 p.
- **Liu L.Z., Fang J., Zhou Q., Hu X., Shi X., Jiang B.H.** Apigenininhibils expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in human lung cancer cells: implication of chemoprevention of lung cancer.Mol. *Pharmacol.* 2005; 68(3): 635-643 p.

- **Liliana Torres-González, Eduardo Cienfuegos-Pecina**. Nephroprotective Effect of *Sonchus oleraceus* Extract against Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats, *Journal ListOxid Med Cell Longev*.(2018); 9572803.
- **Maamri S.** Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : Dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de Magister en biochimie et microbiologie appliqués. 2008 ; 26 p.
- **Madhavi D.L., DESHPANDE S.S.et SALUNKHE D.K.** Food Antioxydants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekkar, Inc. New York. 1996; 65 p.
- **Majhenič L., Škerget M., &Knez Ţ.** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*.2007; 104:1258-1268 p.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Journal of Clinical Nutrition*.2004; 79: 727-747 p.
- **Manach C., WilJiamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C.** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. 1. Review of 97 bioavailability sludies. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 81(1): 230S-242S.
- **Martin LP., Larry GB.,** Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of Sorghum grain. *J Agri Food Chem.* 1975; 25(6): 1268-1273 P.
- **Milane H.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I. 2004.
- **Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S.** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*. 2004; 3:173-193 p.
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbled M.** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).1998.
- **Moon J. K., and Shibamoto T.** Antioxidant assays for plant and food components. *J Agr Food Chem.* 2009; 57: 1655 1666 p.
- Morena M., Martin-Mateo2 M., Cristol J.P., Canaud B. Stress oxydant, hémo incompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*.2002 ; 23(5) : 201-208 p.
- **Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M.** Anti-inflammatory actions of tannins isoled from the bark of Anarcardiumoccidentale L.*journal of Ethnopharmacology*. 1985; **13**: 289-300 p.
- **Mukohata Y., Nakabayashi S., etHigashida M.** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS Lett.* 1978; 85: 215–218 p.

Multon J. L. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries Agroalimentaires. Ed.: Lavoisier, Paris. 2002; 207-231 p.

O'Kennedy R., and Thornes R.D. Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y. 1997.

Paolini V., Dorchies Ph., Hoste H. Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri. 2003; 61:17-19 p.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. *ISBN*.2001; 18: 5573-463 p.

Prior R L., Hoang H., Gu L. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC (FL)) of plasma and other biological and food simples. *Agric. Food Chem.* 2003; (51):3273-3279 P.

Quézel P. et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, édition CNRS, Tome II, Paris.1963 ; 1170 p.

Rahman I., Biswas S.K., Kirkham P.A. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *BiochemPharmacol*. 2006; 72: 1439-1452 p.

Rangkadilok N., Sitthimonchai S., Worasuttayangkurn L., Mahidol C., Ruchirawat M., et Satayavivad J. Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chemical and Toxicology*.2007; 45: 328-336 p.

RavenPeter H., JohnsonGeorges B., MasonKenneth A., Losos Jonathan B., SingerSusan R. Biologie; 4e Édition.2017; 797-798 p.

Ricci D., Giamperi L., Bucchini A., Fraternale D. Antioxidant activity of *Punica granatum* fruits. *Fitoterapia*. 2006; 77(4):310–312 p.

Robinet F-G. Saponosides stéroïdes et triterpéniques de synthèse. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur ès Sciences Techniques. Ecole Polytechnique Fédérale, Zurich, Suisse. 1951.

Roux D. Conseil en aromathérapie. 2ème édition, Pro-Officina .2008; 187 p.

Sanchez-Moreno, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int*. 2002; 8(3): 121-137 p.

Sanja S.D., sheth N.R., pateln K., dhaval P., biraju P. characterization and evaluation of antioxidant activity of portulacaoleracea. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2009; 1(1).

Serigne I. D., Alioune D. F., KadyDiatta-Badji, Abdou S., Madieye S., Moussa S., Amadou M., William D., Emmanuel B. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostig mathonningii schumach.Journal home.* 2017; 11 (2).

Siddhuraju P., Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vignaun guiculata* Walp) seed extracts. *Food Chemistry*.2007; 101(1): 10-19 p.

Sonia C. et jean C. Polyphénols et procédés. LAVOISIER.2011 ;336 p.

Stefanova T., Nikolova N., Michailova A., Mitov I., Iancovii Zlabinger g.I., Neychev, H.,Enhanced resistance to *Salmonella enteric* serovartyphimurium infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*. 2007; 9:7-14 p.

Steinmetz M.D., Elias R., Maillard C., Boudon G., Régli P., Balansard G., GhastinC. Recherche d'une activité antitumorale de saponosides triterpéniques.2ème colloque Européen d'ethnopharmacologie et 11ème conférence internationale d'ethnomédecine. *Heidelberg*. 1993 ; 24-27 p.

Sultana B., Farooq A. and Muhammad A. effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. 2009; 14:2167-2180 p.

Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., and Hilali A. Evaluation of antioxidantactivity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *NigellasativaL.Mater. Environ. Sci*6. 2015; 1111-1117 p.

Tamer Fouad, M.D. Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles, 2003.

Teuscher E., Anton R., Lobstein A. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier Tec et Doc, Paris. 2005 ; 45-96 p.

Tohge T., Ohme M., Takagi M., Yamazaki M., Saito K. Enhanced radical scavenging activity of genetically modified Arabidopsis seeds. *Biotechnol.Lett.* 2005; 27 (5): 297-303 p.

Tomas-Barberan F.A., and Clifford M.N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives: nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science Food and Agriculture*.2000; 80: 1024-1032 p.

Toufektsian M-C., de Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M.B., Giordano L., Mock H-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pilu R., Rotilio D., Tonelli C., de Leiris J., Boucher F., Martin C. Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Nutrition*. 2008; 138: 747-752.

Tsimogiannins D.I., Oreopoulou V. The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food SciEmerg Tech*. 2006; 7: 140-146 p.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metalsand antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact.* 2006; 160: 1–40 p.

Valko M., leibfritz D., Moncol J., Cronin M T D., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Biocell*.2007; 39: 44-84 p.

Van Acker S., van Balen G.P., van den Berg D.J., van der Vijgh W.J.F. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem.Pharmacol.* 1996; 56:935–943 p.

Villano D., Fernandez-Pachon M. S., Moya M. L., Traoncoso A. M. andGarciaparrilla M. C. Radical scaenvengingabityl of phénolic compods towards DPPH free radical. Talanta.2007; 71: 230-235 P.

Walker J.E.M., Saraste M.J., Runswick and Gay N.J. Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiringenzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J.* 1982; 1 (8): 945-51p.

Wenzel U., Kunlz S., Brendel M. D., Daniel H. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. *CancerRes*. 2000; 60(14): 3823-3831 p.

Woodman O.L., Chan ECh.Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans.II. Review of 93 intervention studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 81: 243S-255S.

Yoshida H., Ishikawa T., Hosoai H., Suzukawa M., Ayaori M., Hisada T., et al.,Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58: 1695–703 p.

Zhang Y., Vareed S.K., Nair M.G. Human tumor cell growth inhibition by Non toxic anthocyanidins, the pigments in fruis and vegetables. *Life Sci.* 2005; 76: 1465-1472 p.

Site d'internet:

https://www.urps5962ml.fr/vieillissement-radicaux-libres/

http://abiris.snv.jussieu.fr/flore/descriptions/Laiteron_maraicher.html

Test de DPPH

	acide ascorbique						
	Contrôle	Contrôle 0,1mg/ml 0,05mg/ml 0,03mg/ml 0,025mg/ml 0,02mg/					0,01m
							g/ml
T=0	0,752	0,053	0,165	0,483	0,589	0,594	0,607
T=30min	0,778	0,031	0,133	0 ,401	0,576	0,582	0,608
1h	0,793	0,030	315, 0	0,447	0,503	0,579	0,617
Ι%		96,21	60,27	43,63	36,56	31,98	22,19

	Extrait des tanins						
	Contrôle	0,25mg/ml	0,1875mg/ml	0,15mg/ml	0,075mg/ml		
T=0	0,743	0,454	0,513	0,537	0,572		
T=30min	0,750	0,161	0,240	0 ,304	0,424		
1h	0,762	0,137	0,204	0,264	0,402		
Ι%		82,02	73,22	65,35	47,24		

	Extrait d'huile essentielle							
	Contrôle 0,8241mg/ml 0,5494mg/ml 0,412mg/ml 0,2747mg/ml							
T=0	0,723	0,819	0,879	0,951	0,983			
T=30min	0,712	0,382	0,699	0,721	0,735			
1h	0,711	0,189	0,272	0,358	0,422			
Ι%		73,41	61,74	49,64	40,64			

Extraits sous reflux

	Extrait Aqueux (Partie Aérienne)							
	Contrôle 0,4mg/ml 0,2mg/ml 0,133mg/ml 0,08mg/ml 0,04mg/ml							
T=0	1,013 0,736 0,832 0,918 1,007 1,1							
T=30min	1,240	0,215	0,508	0,725	0,905	1,023		
T=1h	1,250 0,103 0,333 0,432 0,586 0,692							
Ι%		91,76	73,36	65,44	53,12	44,64		

		Extrait Ethanolique (Partie Aérienne)							
	Contrôle 0,3mg/ml 0,2mg/ml 0,12mg/ml 0,06mg/ml								
T=0	1,039	0,836	0,955	1,099	1,265				
T=30min	1,046	1,046 0,510 0,677 0,832 0,993							
T=1h	1,046								
Ι%		68,64	54,39	35,56	20,17				

	Extrait Aqueux (Racines)								
	Contrôle	Contrôle 1mg/ml 0,5mg/ml 0,33mg/ml 0,2mg/ml 0,1mg/ml							
T=0	0,971	0,932	0,997	1,021	1,102	1,253			
T=30min	0,992	0,684	0,886	0,901	0,981	1,013			
T=1h	0,993	0,993 0,358 0,516 0,594 0,688 0,754							
Ι%		63,94	48,03	40,18	30,71	24,06			

	Extrait Ethanolique (Racines)								
	Contrôle 0,5mg/ml 0,25mg/ml 0,2mg/ml 0,1mg/ml								
T=0	1,024 0,899 0,913 1,024 1,114								
T=30min	1,033 0,656 0,871 0,923 0,998								
T=1h	1,036 0,328 0,593 0,665 0,727								
Ι%	_	68,33	42,76	35,81	29,82				

Extraits par macération

	Extrait Aqueux (Partie Aérienne)								
	Contrôle	Contrôle 2mg/ml 1mg/ml 0,66mg/ml 0,5mg/ml 0,4mg/ml							
T=0	0,984	0,893	0,954	1,035	1,112	1,165			
T=30min	0,982	0,399	0,675	0,722	0,835	0,895			
T=1h	0,984	0,984 0,175 0,327 0,496 0,532 0,597							
Ι%		82,21	66,76	49,59	45,93	39,32			

	Extrait Ethanolique (Partie Aérienne)								
	Contrôle 1mg/ml 0,66mg/ml 0,4mg/ml 0,2mg/ml								
T=0	1,025	0,899	0,923	0,935	1,003				
T=30min	1,013	0,731	0,667	0,672	0,691				
T=1h	1,013 0,452 0,507 0,543 0,575								
Ι%		55,38	49,95	46,36	43,23				

	Extrait Aqueux (Racines)						
	Contrôle	2mg/ml	1mg/ml	0,66mg/ml	0,5mg/ml	0,4mg/ml	
T=0	0,944	0,799	0,823	0,921	0,933	0,939	
T=30min	0,948	0,332	0,652	0,742	0,893	0,912	
T=1h	0,943	0,179	0,376	0,433	0,519	0,583	
Ι%		81,01	60,12	54,08	44,96	38,17	

	Extrait Ethanolique (Racines)							
	Contrôle	1mg/ml	0,66mg/ml	0,4mg/ml	0,2mg/ml			
T=0	0,835	0,801	0,811	0,823	0,845			
T=30min	0,811	0,426	0,622	0,712	0,815			
T=1h	0,812 0,350 0,484 0,626 0,722							
Ι%		56,89	40,39	22,99	11,08			

Test de FRAP

Acide ascorbique									
[C]mg/ml 0 ,01 0,005 0,003 0,0025 0,002 0,001									
DO									

Les tanins							
[C]mg/ml 0,75 0,375 0,25 0,1875 0,15 0,075 0,0375							
DO 0,622 0,444 0,302 0,192 0,135 0,08 0,058							

L'huile essentielle							
[C]mg/ml 1,6483 0,8241 0,5494 0,412 0,2747							
DO 0,522 0,422 0,364 0,226 0,186							

Extraits sous reflux

Extrait éthanolique partie aérienne									
[C]mg/ml 0,6 0,3 0,2 0,15 0,12 0,06									
DO	DO 0,650 0,461 0,493 0,375 0,120 0,012								

Extrait aqueux partie aérienne								
[C]mg/ml 0,4 0,2 0,13 0,10 0,08 0,04								
DO								

	Extrait aqueux racines								
[C]mg/ml	1	0,5	0,33	0,25	0,20	0,1			
DO									

Extrait éthanolique racines							
[C]mg/ml 1 0,5 0,33 0,25 0,20 0,1							
DO 0,422 0,251 0,217 0,102 0,086 0,017							

Extraits par macération

Extrait aqueux partie aérienne								
[C]mg/ml	2	1	0,5	0,4	0,2			
DO	1,454							

Extrait éthanolique partie aérienne							
[C]mg/ml 2 1 0,5 0,4 0,2							
DO							

	Extrait aqueux racines							
[C]mg/ml 2 1 0,5 0,4 0,2								
DO	0,602	0,544	0,322	0,311	0,293			

Extrait éthanolique racines							
[C]mg/ml 2 1 0,5 0,4 0,2							
DO	0,311	0,236	0,11	0,042	0,038		