

## REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



#### **UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEN**

### **MEMOIRE**

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par:

**BAKHTI Samia** 

**BELARBI** Raouida

Sur le thème

## Contribution à l'étude de l'effet hémolytique des extraits hydro-alcooliques de *Sonchus oleraceus* L.

Soutenu publiquement le 31 Mai 2023 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme TABET ZATLA Amina Maître de conférences A Université de Tlemcen Présidente

Mr SELLES Chaouki Professeur Université de Tlemcen Examinateur

Mme MELIANI Nawel Maître de conférences B Université de Tlemcen Encadreur

Année Universitaire: 2022 ~ 2023

#### Remerciements

« Louanges à ALLAH le tout puissant qui nous a aidé durant toute notre vie »

On souhaite exprimer notre profonde gratitude envers notre encadrante Mme **MELIANI Nawel**, pour sa disponibilité, son orientation, sa confiance, sa patience et le temps qu'elle nous a consacré.

Nous exprimons notre gratitude envers Mme **TABET ZATLA Amina** notre enseignante également responsable du Master CPN pour avoir accepté de présider le jury.

On remercie aussi le professeur **SELLES Chaouki**, pour avoir aimablement accepté d'examiner notre présent travail et de participer à ce jury.

Toutes nos expressions de remerciements à l'ensemble des enseignants et professeurs qui nous ont aidé de près ou de loin et particulièrement ceux du département de chimie pour leur dévouement à l'enseignement et leur soutien inconditionnel tout au long de notre parcours universitaire. Leur expertise et leur savoir-faire nous ont grandement aidés à approfondir nos connaissances dans le domaine de la chimie et nous ont permis d'avancer dans notre formation. Nous leurs sommes infiniment reconnaissants pour leur engagement envers notre réussite académique.

On tient à remercier chaleureusement Mme YAHIAOUI Kheira, ingénieur au niveau du laboratoire des Substances Naturelles et Biactives « LASNABIO » pour sa bienveillance, son amabilité, son soutien, sa précieuse contribution à notre travail et surtout pour son aide, ses conseils éclairés et sa grande gentillesse tout au long de nos travaux pratiques.

On adresse toute notre reconnaissance pour **ABBOU FAYZA** doctorante au département de biologie pour son immense aide et ses précieux conseils.

#### Dédicace

A mes très chers parents, Je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour votre soutien indéfectible, votre amour et vos encouragements tout au long de mon parcours scolaire, je ne vous remercierai jamais assez. Maman, ta force, ta sagesse et tes conseils ont été une source constante d'inspiration pour moi. Votre foi inébranlable en moi m'a donné le courage de poursuivre mes rêves et de ne jamais abandonner. Papa, ton travail acharné, ton dévouement et ton sacrifice m'ont appris la valeur de la persévérance et de la détermination. Je suis reconnaissante de vous avoir tous les deux comme parents, et je sais que je ne serai pas ici sans vous. Je vous dédie cette réalisation, avec tout mon amour et mon appréciation.

A mes sœurs, mes frères et leurs enfants, votre amour et votre présence ont été une source de réconfort et de motivation qui m'ont permis de persévérer dans les moments difficiles. Je suis chanceuse de vous avoir dans ma vie.

A mes amies Samia et Chahrazed, merci d'avoir été à mes côtés dans les moments de joie comme dans les moments de difficulté. Votre amitié est un véritable trésor pour moi, et je suis reconnaissante de vous avoir dans ma vie.

Et pour tout le reste de ma famille et les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin même avec un gentil mot.

Raouida

#### Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma merveille, ma mère pour sa grande affection et douceur envers moi durant chaque étape de ma vie. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Mon très cher papa, pour sa générosité, ses sacrifices, ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours car c'est grâce à toi que j'ai appris le sens du travail et de la persévérance. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.

Mes très chères sœurs : Saléha, Aicha Rihem et mon petit frère Aymen pour leur soutien et amour quotidien.

Mon binôme et ma meilleure amie Raouida, pour sa sincère amitié et sa bienveillance, je suis reconnaissante de t'avoir dans ma vie.

Et pour tout le reste de ma famille et les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin et qui m'ont toujours souhaité la réussite dans mon parcours universitaire.

Samia

### Sommaire

| Liste des figures   |    |
|---|----|
| Liste des tableaux  |    |
| Liste des abréviations                                      |    |
| Résumé  |    |
| Abstract  |    |
| منخص  |    |
| Introduction générale                                       | 1  |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE                                      |    |
| Chapitre 1 : Généralités                                    | 3  |
| 1. La phytothérapie   | 3  |
| 2. Les plantes médicinales                                  | 3  |
| 3. Métabolites des plantes médicinales                      | 3  |
| 3.1 Métabolites primaires                                   | 3  |
| 3.2 Métabolites secondaires                                 | 4  |
| 3.2.1 Composés phénoliques                                  | 4  |
| 3.2.2 Alcaloïdes  | 4  |
| 3.2.3 Flavonoïdes   | 4  |
| 3.2.4 Tanins  | 4  |
| 3.2.5 Saponosides   | 5  |
| 3.2.6 Hétérosides   | 5  |
| 4. Les propriétés pharmacologiques                          | 5  |
| 4.1 Activité antioxydante                                   | 5  |
| 5. La toxicité des plantes médicinales                      | 6  |
| 6. Hémolyse   | 6  |
| Chapitre 2 : Présentation de la plante                      | 8  |
| 1. Description de La plante étudiée « Sonchus oleraceus L.» | 8  |
| 1.1 Arbre taxonomique de la plante                          | 9  |
| 1.2 Distribution géographique                               | 9  |
| 1.3 Usage traditionnel de Sonchus oleraceus L               | 9  |
| 2. Travaux antérieurs réalisés sur « Sonchus oleraceus L. » | 10 |
| PARTIE EXPÉRIMENTALE  |    |
| Chapitre 1 : Matériels et méthodes                          | 12 |
| 1 Objectif  | 12 |

| 2. Plante utilisée « Sonchus oleraceus L. »                              | 12 |
|--|----|
| 2.1 Lieu et période de récolte   | 12 |
| 2.2 Reconnaissance botanique   | 12 |
| 2.3 Préparation du matériel végétal                                      | 13 |
| 3. Récupération des extraits   | 13 |
| 3.1 Extraction sous reflux   | 13 |
| 3.1.1 Extrait aqueux   | 14 |
| 3.1.2 Extrait éthanolique  | 14 |
| 3.1.3 Extrait hydroéthanolique   | 14 |
| 3.1.4 Extraction des polyphénols   | 14 |
| 4. Rendements en extraits secs   | 15 |
| 4.1 Rendements des extraits secs (aqueux, éthanolique, hydroéthanolique) | 15 |
| 4.2 Rendement de l'extrait polyphénolique                                | 15 |
| 5. Les analyses réalisées sur les extraits de S.oleraceus                | 15 |
| 5.1 Screening phytochimique  | 15 |
| Les saponosides  | 16 |
| Les tanins   | 16 |
| Les hétérosides  | 16 |
| Les flavonoïdes  | 16 |
| Les alcaloïdes   | 16 |
| Les polyphénols  | 16 |
| 5.2 Evaluation chimique de l'activité antioxydante des extraits bruts    | 17 |
| 5.2.1 Piégeage du radical libre DPPH                                     | 17 |
| 5.2.2 Réduction du fer FRAP  | 20 |
| 5.3 Etude de l'activité hémolytique                                      | 21 |
| Chapitre 2 : Résultats et interprétations                                | 23 |
| 1. Rendement en extraits secs  | 23 |
| 2. Les tests phytochimiques  | 24 |
| > Test des Saponosides   | 24 |
| > Test des tanins  | 25 |
| > Test des hétérosides   | 25 |
| > Test des flavonoïdes   | 25 |
| > Test des alcaloïdes  | 25 |
| > Test des polyphénols   | 25 |

| 3. Estimation des propriétés antioxydantes des différents extraits de la plante | 25 |
|---|----|
| 3.1 Piégeage du radical libre DPPH  | 25 |
| 3.2 Pouvoir réducteur du fer  | 28 |
| 4. Evaluation de l'effet hémolytique  | 30 |
| Conclusion et perspectives  | 33 |
| Références bibliographiques   | 35 |
| Annexes   | 38 |

| Figure 1: La plante sonchus oleraceus L.   | 8             |
|--|---------------|
| Figure 2 : Zone géographique de lieu de récolte de S. oleraceus (Maps 2023)                          | 12            |
| Figure 3: Tiges, feuilles et fleurs de la plante   | 13            |
| Figure 4: Montage à reflux, filtration et séchage  | 13            |
| Figure 5 : Plante dégraissée   | 14            |
| Figure 6 : La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant                                     |               |
| Figure 7: Spectrophotomètre UV-VISIBLE   | 19            |
| Figure 8 : La réaction de réduction des ions Fe <sup>3+</sup> en Fe <sup>2+</sup> favorisée par la p | résence d'un  |
| antioxydant  | 20            |
| Figure 9 : Les solutions préparées   | 21            |
| Figure 10 : Sang après centrifugation  | 22            |
| Figure 11: Les extraits secs   | 23            |
| Figure 12 : Rendements des différents extraits secs de la plante                                     | 24            |
| Figure 13 : Changement de couleur des extraits en présence de DPPH                                   | 25            |
| Figure 14: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en                          | fonction des  |
| concentrations des extraits de S. oleraceus et de VIT C  | 26            |
| Figure 15 : Les différentes valeurs de CI50 des différents extraits et de VIT C                      | 27            |
| Figure 16 : Changement de couleur des extraits en présence de fer                                    | 28            |
| Figure 17: Augmentation des absorbances en fonctions des concentrations                              | de différents |
| extraits de S.oleraceus et de VIT C  | 29            |
| Figure 18 : Hémolyse à différentes concentrations et Les témoins T+ et T                             | 30            |
| Figure 19 : L'évolution des pourcentages d'hémolyse en fonction des conce                            | ntrations des |
| extraits de S. oleraceus et d'AG   | 31            |

#### Liste des tableaux

| Tableau 1: Toxicité de quelques plantes médicinales   | 6    |
|---|------|
| Tableau 2 : La nomenclature de la plante  | 8    |
| Tableau 3 : Classification systématique de Sonchus oleraceus L.   | 9    |
| Tableau 4 : Propriétés de quelques parties de la plante   | 10   |
| Tableau 5 : Etude phytochimique des extraits hydrométhanolique et aqueux de la partie aérienne            | e de |
| Sonchus oleraceus L   | 11   |
| Tableau 6 : Potentiel antioxydant des extraits de S.oleraceus   | 11   |
| Tableau 7 : Propriétés des extraits secs  | 23   |
| Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques sur les extraits de Sonchus oleraceus L                    | 24   |
| <b>Tableau 9 :</b> Les valeurs de CI50 et d'A <sub>AR</sub> des différents extraits de <i>S.oleraceus</i> |      |
| <b>Tableau 10 :</b> Valeurs de CI50 des différents extraits   | 28   |

#### Liste des abréviations

S.oleraceus: Sonchus oleraceus L.

**DPPH**: 2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazine

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

**Fe**<sup>2+</sup>: Fer ferreux

Fe<sup>3+</sup>: Fer ferrique

v/v: Rapport volume par volume

CI50: La concentration d'un extrait nécessaire pour inhiber la moitié (50%) des radicaux

libres

mg: Milligramme

nm: Nanomètre

°C: Degré Celsius

**PBS**: Tampon phosphate saline

**SE**: Suspension érythrocytaire

**I**: Inhibition

%: Pourcentage

mL: Millilitres

**mmol**: Millimole

cm: Centimètres

**EA**: Extrait aqueux

**EE**: Extrait éthanolique

**EHE**: Extrait hydroéthanolique

**EP**: Extrait polyphénolique

**VIT C:** Vitamine C

**AG**: Acide gallique

**UV**: Ultra-violet

**RL**: Radical libre

**DO :** Densité optique

**Abs**: Absorbance

pH: Potentiel hydrogène

**T+:** Témoin positif

T-: Témoin négatif

mol: Moles

**g**: Grammes

FeCl<sub>3</sub>: Chlorure de fer

 ${\bf BHT:}$  Hydroxy toluène butylé

**h**: Heure

min: Minutes

#### Résumé

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO-TLEMCEN) dans le but d'analyser les extraits de la partie aérienne de la plante *Sonchus oleraceus* L., une plante annuelle appartenant à la famille des Astéracées et largement utilisée en médecine traditionnelle. L'objectif principal de cette étude est l'évaluation de la cytotoxicité des extraits sur les globules rouges humains.

Les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique ont été préparés à partir d'une extraction à chaud, et l'extrait polyphénolique est obtenu en utilisant un protocole d'extraction de polyphénols.

Les réactions de précipitation et de changement de couleur ont été utilisées pour déterminer la présence des métabolites secondaires, tels que les tanins, saponosides, hétérosides, alcaloïdes, et les flavonoïdes.

L'activité antioxydante a été effectuée en utilisant les tests DPPH et FRAP, et a montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante relativement faible par rapport à la référence (vitamine C), bien qu'il soit meilleur selon les deux tests. Le pouvoir hémolytique des extraits sur les globules rouges humains a été déterminé, et les résultats ont montré un effet toxique très faible de la partie aérienne de la plante, même à des doses élevées.

Mots clés: sonchus oleraceus L., DPPH, FRAP, globules rouges.

#### **Abstract**

This study was carried out in the Laboratory of Natural and Bioactive Substances (LASNABIO-TLEMCEN) in order to analyse the extracts of the aerial part of the plant *Sonchus oleraceus* L., an annual plant belonging to the Asteraceae family and widely used in traditional medicine. The main objective of this study is to evaluate the cytotoxicity of extracts on human red blood cells.

The aqueous, ethanolic and hydroethanolic extracts were prepared from hot extraction, and the polyphenolic extract is obtained using a polyphenol extraction protocol.

Precipitation and color change reactions were used to determine the presence secondary metabolites, such as tannins, saponosides, heterosides, alkaloids, and flavonoids.

The antioxidant activity was performed using the DPPH and FRAP tests, and showed that the aqueous extract has a relatively low antioxidant activity compared to the baseline (vitamin C), although it is better according to both tests. The hemolytic power of the extracts on the human red blood cells was determined, and the results showed a very low toxic effect of the aerial part of the plant, even at high doses.

Keywords: sonchus oleraceus L., DPPH, FRAP, red blood cells.

#### ملخص

تم إجراء هذه الدراسة في مخبر المواد الطبيعية والأحيائية من أجل تحليل مستخلصات الجزء الجوي من نبات الحليبة او التلفاف و هو نبات سنوي ينتمي إلى عائلة استراسي ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقايدي. الهدف الرئيسي لهذه الدراسة هي التأثير الانحلالي للمستخلصات على خلايا الدم الحمراء البشرية.

تم تحضير المستخلصات المائية والإيثانولية والكحولية المائية من الاستخراج الساخن، ويتم الحصول على المستخلص متعدد الفينول باستخدام بروتوكول استخراج البوليفينول.

تم استخدام تفاعلات ترسب وتغير اللون لتحديد المستقلبات الثانوية، مثل العفص والصابونوسيدات والهيتير وسيدات والقلويدات والفلافونويد.

تم إجراء النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و FRAP.

أظهر أن المستخلص المائي له نشاط منخفض نسبيًا ضد الأكسدة مقارنة بخط الأساس (فيتامين س)، على الرغم من أنه أفضل وفقًا لكلا الاختبارين. تم تحديد القوة الانحلالية للمستخلصات على خلايا الدم الحمراء البشرية، وأظهرت النتائج تأثيرًا سامًا منخفضًا جدًا للأجزاء الهوائية من النبات حتى عند الجرعات العالية.

الكلمات الرئيسية: خلايا الدم الحمراء،DPPH ،FRAP ، التلفاف، الحليبة .

#### **Introduction générale**

Depuis des temps très anciens, les êtres humains ont valorisé les plantes pour leurs vertus calmantes et antalgiques. Aujourd'hui encore, deux tiers des remèdes de la pharmacopée font appel aux vertus curatives des plantes. Tout au long de l'histoire, les traditions humaines ont développé des connaissances et des pratiques dans l'utilisation des plantes médicinales. Certaines de ces pratiques peuvent sembler étranges et relever de la magie, tandis que d'autres sont fondées sur des preuves plus concrètes et sont rendues efficaces. Cependant, toutes ces pratiques ont pour but de soulager la souffrance et d'améliorer la santé humaine [1].

Les effets de la phytothérapie sur le corps humain sont influencés par les composants spécifiques présents dans les plantes. Depuis le 18<sup>ème</sup> siècle, les scientifiques ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques actives dans les plantes, ce qui a permis de mieux comprendre comment ces principes actifs agissent sur l'organisme [2].

Les plantes médicinales sont utilisées dans le monde entier depuis des milliers d'années. L'Algérie en particulier possède une diversité floristique importante due à la variété des conditions climatiques et géographiques. Cette richesse végétale est utilisée à des fins thérapeutiques depuis des siècles par les populations locales, notamment à travers la médecine traditionnelle.

Notre étude s'est concentrée sur une espèce spécifique de plantes médicinales, à savoir *Sonchus oleraceus* L., également appelée « laiteron maraicher ». Cette plante appartient la famille des Astéracées et originaire d'Afrique du Nord et d'Europe. Elle est largement connue en Algérie sous le nom vernaculaire de « Tilfaf » [3].

Le choix de *Sonchus oleraceus* L. (Tilfaf) comme sujet de notre étude est basé sur plusieurs raisons surtout : sa disponibilité dans différentes régions d'Algérie, sa richesse en principes actifs, son utilisation traditionnelle, ainsi que ses propriétés pharmacologiques qui ont été démontrées scientifiquement, son importante activité antioxydante démontrée par plusieurs chercheurs, en plus cette espèce n'a pas été très étudiée auparavant au niveau de sa toxicité.

Le présent manuscrit est structuré en deux parties distinctes :

La première partie de notre travail est consacrée à une revue bibliographique.

Le premier chapitre concerne un aperçu général sur la phytothérapie, les plantes médicinales et leurs métabolites, l'activité antioxydante, la toxicité de quelques plantes médicinales, ainsi que l'effet hémolytique.

Le deuxième chapitre englobe les caractéristiques botaniques de *Sonchus oleraceus* L. sa distribution dans le monde ainsi que son usage traditionnel, et on a terminé par quelques travaux antérieurs réalisés sur notre plante.

La deuxième partie de notre manuscrit portera sur notre travail personnel :

Le premier chapitre commence par la préparation du matériel végétal et la récupération des différents extraits. Nous présentons également les protocoles de suivi pour le screening phytochimique, l'évaluation biologique des différents extraits de l'espèce en question, notamment pour l'activité antioxydante et l'effet hémolytique.

Le deuxième chapitre présente l'ensemble des résultats obtenus qui sont ensuite interprétés, analysés et discutés à la lumière des informations disponibles dans la littérature scientifique.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1 : Généralités

#### 1. La phytothérapie

Le mot « phytothérapie » est formé par la combinaison de deux mots grecs : « phuton » qui fait référence aux plantes et « therapeia » qui désigne les soins ou traitements [4]. Elle consiste à utiliser des préparations à base de plantes entières ou de parties de plantes (feuilles, fleurs, racines, fruits et graines) pour traiter ou prévenir plusieurs maladies ou troubles. Ces préparations peuvent être obtenues par infusion, décoction ou macération [1].

En résumé, la phytothérapie est une approche thérapeutique qui utilise les bienfaits de la nature pour aider à guérir et préserver la santé.

#### 2. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales représentent une richesse inestimable pour l'humanité, car elles constituent comme des laboratoires naturels des composés biochimiques actifs que l'homme peut utiliser pour préserver sa santé et répondre à ses besoins vitaux. En effet, ces plantes sont de véritables usines chimiques naturelles [5].

La notion de plante médicinale est assez élémentaire, parce qu'elle désigne simplement une plante qui est employée pour prévenir, traiter ou soulager divers maux. Ces plantes sont produites comme des drogues végétales, car au moins une de leurs parties possède des propriétés médicinales. Elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle et leurs effets sont dus aux composés chimiques qu'elles contiennent (métabolite primaire ou secondaire) ou bien à la synergie entre ces deux types de métabolites [5].

#### 3. Métabolites des plantes médicinales

Les plantes sont capables de synthétiser une multitude de substances chimiques. De nombreuses recherches sont consacrées à l'évaluation de la valeur thérapeutique. On peut classer les substances produites par les plantes en deux catégories principales : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. De nombreuses recherches sont consacrés à l'évaluation de la valeur thérapeutique des métabolites de plantes, afin d'identifier les principaux éléments actifs qui contribuent à leurs propriétés médicinales [5].

#### 3.1 Métabolites primaires

Les métabolites primaires tels que les protéines, les lipides, les glucides et les acides nucléiques sont présents dans toutes les espèces végétales et alimentent les voies métaboliques centrales [6].

#### 3.2 Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des produits en réponse à des stimuli environnementaux et ont une distribution limitée dans la plante. Ils sont essentiels à la défense de la plante contre les agressions extérieures et participent à son adaptation à son environnement en lui conférant une tolérance accrue face aux stress variés, tels que les pathogènes, les insectes, la sécheresse ou la lumière UV. La distribution des métabolites secondaires diffère d'une plante à une autre en fonction de leur rôle et de leur emplacement spécifique dans la plante. Ces composés peuvent également servir à établir une classification chimique des plantes en fonction de leur genre, leur famille ou leur espèce.

La présence de ces métabolites est observable dans toutes les parties des plantes, mais leur localisation varie en fonction de leur fonction spécifique. Les familles majeures de métabolites secondaires présentes chez les plantes incluent les composés phénoliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les hétérosides [5].

#### 3.2.1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques également appelés polyphénols, sont des métabolites secondaires présents dans un grand nombre de végétaux, allant des acides phénoliques aux tanins, sont considérés comme la base des principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les retrouve notamment dans les fruits et légumes. Ces composés ont démontré des effets bénéfiques pour la santé, notamment leur action antioxydante, antibactérienne et antifongique, et ont été identifiés comme étant des protecteurs potentiels contre certains types de cancers [7].

#### 3.2.2 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules organiques naturelles hétérocycliques contenant de l'azote, caractérisées par leur structure moléculaire complexe et leurs propriétés physiologiques puissantes, même à faibles doses. En raison de leurs effets bénéfiques pour la santé, les alcaloïdes sont utilisés comme anticancer, sédatifs, et pour traiter les troubles nerveux tels que la maladie de Parkinson [2].

#### 3.2.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques que l'on trouve dans la plupart des plantes, et qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits en jaune ou en blanc. Outre leur rôle esthétique, les flavonoïdes ont un champ d'action important et présentent de nombreuses vertus médicinales. Grâce à leur pouvoir antioxydant, ils contribuent particulièrement au maintien d'une bonne circulation sanguine. En outre, certains flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antivirales et sont capables de protéger le foie [2].

#### **3.2.4 Tanins**

Les tanins sont présents dans toutes les plantes, bien que leur concentration puisse varier. Ces composés polyphénoliques donnent un gout amer à l'écorce ou aux feuilles, ce qui

les rend impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins ont la capacité de contracter les tissus en se liant aux protéines et en les précipitant. C'est pourquoi ils sont souvent utilisés pour « tanner » les peaux et pour prévenir la pourriture. En médecine, les tanins peuvent être utilisés pour arrêter les hémorragies et lutter contre les infections [2].

#### 3.2.5 Saponosides

Les saponines sont des composés naturels présents dans de nombreuses plantes médicinales. Ces hétérosides naturels et ont été nommées ainsi en raison de leur potentialité à produire une mousse lorsqu'on les plonge dans l'eau, tout comme le savon. Les saponines se présentent sous deux formes principales : les stéroïdes et les terpénoïdes. Les stéroïdes ont une structure chimique similaire à celle de nombreuses hormones humaines telles que l'œstrogène et la cortisone. De nombreuses plantes qui contiennent des saponines stéroïdiennes ont un effet sur l'activité hormonale. Les saponines terpénoïdes ont une activité hormonale moins importante, sont connues pour avoir une activité expectorante [2].

#### 3.2.6 Hétérosides

Appelés aussi glucosides, ils sont créés par la liaison entre un sucre et une autre molécule connue sous le nom d'aglycone. Cependant, il est important de noter que tous les dérivés de sucres ne sont pas des hétérosides. Ces derniers ce sont des composés chimiques présents dans le règne végétal, mais leur distribution est assez variable. On les trouve principalement dans les organes des plantes tels que les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits. Il est possible qu'une même plante contienne plusieurs hétérosides différents, et inversement, un même hétéroside peut être présent dans des plantes très différentes [8].

#### 4. Les propriétés pharmacologiques

Les extraits végétaux sont exploités dans divers domaines tels que l'industrie, l'alimentation, la cosmétique et la pharmacologie, en raison de leurs nombreux avantages [9]. En effet, les espèces végétales utilisées présentent une grande variété d'activités biologiques bénéfiques pour la santé, telles que l'effet antibactérien, antioxydant, antifongique, anti-inflammatoire et anticancéreux [10].

#### 4.1 Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés qui empêchent ou freinent l'oxydation d'un substrat, et qui se trouvent sous de multiples formes. Ils peuvent également jouer un rôle préventif dans la formation des radicaux libres (RL) [11].

Un radical est une entité moléculaire qui possède un ou plusieurs électrons célibataires sur sa couche externe. Du fait de leur instabilité, ces radicaux ont tendance à réagir rapidement avec d'autres composés en capturant un électron pour atteindre leur stabilité. Parmi les radicaux courants, on peut citer le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>\*), le superoxyde (O<sub>2</sub>\*-), le radical hydroxyle (HO\*) et le monoxyde d'azote (NO\*).

On peut distinguer deux catégories d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes, tels que superoxyde dismutase et catalase, sont principalement des enzymes qui sont synthétisées par l'organisme lui-même.

La réaction de dismutation de l'anion superoxyde par le superoxyde dismutase se produit selon l'équation suivante :  $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 

La catalase catalyse la réaction suivante :  $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ 

En revanche, les antioxydants exogènes sont apportés de l'extérieur, notamment par l'alimentation, et comprennent des vitamines telles que A, E, C, ainsi que certains oligoéléments comme le cuivre et le zinc [12].

#### 5. La toxicité des plantes médicinales

Bien que les plantes médicinales soient des remèdes naturels, cela ne les rend pas systématiquement sans danger pour la santé humaine et peuvent s'avérer toxiques, voire mortelles pour l'organisme. En effet, bien qu'elles puissent sembler inoffensives, certaines plantes peuvent être toxiques.

L'utilisation de plantes toxiques peut causer des troubles variés plus ou moins graves voire mortels chez l'homme ou les animaux. De même, toute plante médicinale peut générer des effets secondaires indésirables dans les conditions normales d'utilisation [13].

Le tableau suivant résume la toxicité de quelques plantes médicinales de la famille des Asteraceae [14].

| Toxicité            | Substance toxique       | Partie de        | Exemple de plante       |
|---------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|
|                     |                         | plante           |                         |
| Allergie au contact | Lactone sesquiterpène   | Feuilles, tiges, | Chamaemelum nobile      |
|                     |                         | fleurs           |                         |
| Irritation des      | Lactones sesquiterpènes | Plante entière   | Arnica montana          |
| muqueuses           |                         |                  |                         |
| Allergie            | caronopiline            | Fleurs           | Ambrosia artemisiifolia |
| respiratoire et     |                         |                  |                         |
| conjonctivite       |                         |                  |                         |
| Intoxication        | Alcaloïdes              | Plante entière   | Senecio vulgaris        |
| hépatique           | pyrrolizidiniques       |                  |                         |

**Tableau 1:** Toxicité de quelques plantes médicinales

#### 6. Hémolyse

L'hémolyse composée de hémo qui veut dire sang et lyse qui veut dire perturbation. C'est un processus biologique au cours duquel les globules rouges, également appelés érythrocytes, sont détruits. Ce phénomène peut se produire naturellement à la fin de la durée de vie normale des globules rouges, qui est d'environ 120 jours, ou en raison de divers facteurs pathologiques tels que des infections, des réactions immunitaires ou des substances

#### Chapitre 1 : Généralités

toxiques ou même un exercice physique intense. L'hémolyse peut entrainer la libération de l'hémoglobine, qui est une protéine responsable du transport de l'oxygène dans le sang, ainsi que d'autres composants intracellulaires. Les hémolysines endommagent la membrane cytoplasmique des globules rouges, provoquant la lyse et finalement la mort des cellules. L'hémolyse peut se produire *in vivo* ou *in vitro* (à l'intérieur ou à l'extérieur du corps), sa quantité peut être évaluée par un test d'hémolyse [15].

#### Chapitre 2 : Présentation de la plante

#### 1. Description de La plante étudiée « Sonchus oleraceus L.»

Carolus Linnaeus a désigné *Sonchus oleraceus* L. dans son ouvrage intitulé « Species Plantarum » en 1753. Le terme « Sonchus » provient du grec et fait référence au chardon de truie, signifiant « creux ». Ce nom fait référence aux tiges de la plante qui sont creuses, tandis que l'épithète « oleraceus » signifie « légume de cuisine ».



Figure 1: La plante sonchus oleraceus L.

Sonchus oleraceus L. se caractérise par une racine pivotante et de petite taille, ainsi que des feuilles ovales et lisses de couleur vert foncé avec des veines blanches pâles à violettes. La plante fleurit habituellement au printemps et en été [16].

**Tableau 2 :** La nomenclature de la plante

| Nom vernaculaire | Laiteron maraicher, laiteron potager, laiteron commun, lastron, laiteron lisse |  |
|------------------|--|--|
| Nom anglais      | Annual sowthistle, milk thistle, smooth sow thiste                             |  |
| Nom arabe        | الحليبة التفاف، التلفاف  |  |
| Nom scientifique | Sonchus oleraceus L.   |  |

#### 1.1 Arbre taxonomique de la plante

**Tableau 3 :** Classification systématique de *Sonchus oleraceus* L. [3].

| Plantae       |
|---------------|
| Tracheobionta |
| Phanerogamae  |
| Magnoliophyta |
| Magnoliopsida |
| Astéridae     |
| Astérales     |
| Astéraceae    |
| Sonchus       |
| Oleraceus L.  |
|               |

#### 1.2 Distribution géographique

Malgré son origine européenne, nord-africaine et asiatique occidentale, *Sonchus oleraceus* L. s'est répandue dans le monde entier, atteignant des régions comme l'Amérique du Nord et du Sud, l'Inde, la Chine, l'Australie, les îles du Pacifique et les îles antarctiques, ce qui en fait une espèce cosmopolite.

Sonchus oleraceus L. est communément présent dans les pays où les cultures agricoles sont étendues, mais sa densité peut fluctuer en fonction des conditions propices à sa croissance. Aux États-Unis, il est répandu dans tous les États, bien que sa densité soit plus élevée le long de la côte du Pacifique, ainsi que dans les États du sud-ouest et du sud-est [3].

#### 1.3 Usage traditionnel de Sonchus oleraceus L.

Les peuples à travers le monde ont consommé *Sonchus oleraceus* L. sous forme de légume à salade ou en pot. Les chardons de truie annuels possèdent une grande variété d'utilisations, que ce soit comme nourriture et remèdes traditionnels en Afrique et en Asie, ainsi que pour l'alimentation du bétail et des autres animaux d'élevage. Les propriétés nutritionnelles et médicinales des chardons de truie annuels les rendent polyvalents pour différentes utilisations. Cette plante est reconnue pour ses propriétés diététiques et médicinales en Chine où elle est souvent cuisinée pour ses propriétés anti-inflammatoires. En Afrique et dans d'autres régions du monde, *Sonchus oleraceus* L. est généralement cueilli dans la nature, bien qu'il soit également cultivé à petite échelle en Indonésie. En Nouvelle-

#### Chapitre 2 : Présentation de la plante

Zélande, cette plante est particulièrement appréciée en tant que légume vert, souvent cuisinée avec de la viande. Le jus de la plante est connu pour ses propriétés toniques et laxatives, tandis que la sève blanche peut être utilisée comme chewing-gum [3].

**Tableau 4 :** Propriétés de quelques parties de la plante

| Partie de plante | racine   | Feuilles             | latex       |
|------------------|----------|----------------------|-------------|
| Propriétés       | Purgatif | Anti- inflammatoires | Anti-verrue |

#### 2. Travaux antérieurs réalisés sur « Sonchus oleraceus L. »

Dans la bibliographie, il existe des études réalisées sur les extraits d*e Sonchus oleraceus* L. notamment : le criblage phytochimique, l'activité antioxydante, la toxicité, etc.

Un article a été publié récemment en 2022 a réalisé des tests phytochimiques sur deux différents extraits de la partie aérienne de la plante (broyée en poudre) qui a été récoltée sur la ville de Guelma [17].

Le premier extrait est un extrait hydrométhanolique préparé à partir d'une macération de 200 g de la poudre de *S.oleraceus* pendant 72 h à température ambiante puis filtré et conservé au réfrigérateur.

Le deuxième extrait est un extrait aqueux à chaud préparé à partir d'une macération dans 1 L d'eau durant 4 h jusqu'à ébullition, puis filtré et conservé au frais.

Les tests phytochimiques montrent que *Sonchus oleraceus* L. contient plusieurs composés phytochimiques comme l'indique le tableau 5.

Dans le même article, l'auteur a réalisé une étude sur les extraits de la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* L. sur des souris. Cette étude montre qu'aucun animal n'est mort dans les 24 h suivant le traitement avec les extraits aqueux et hydro-alcoolique. Aucune mortalité ni aucun signe de toxicité chez les souris femelles n'ont été enregistrés parmi toutes les doses testées tout au long de la période expérimentale de deux semaines. En outre, les groupes traités étaient physiquement actifs, consommaient de la nourriture et l'eau comme d'habitude. Aucun signe de comportement anormal n'a été remarqué par rapport au groupe témoin, la dose létale (DL50) des deux extraits aqueux et hydro-alcoolique pour les souris femelles est estimée à 5000 mg/kg [17].

**Tableau 5 :** Etude phytochimique des extraits hydrométhanolique et aqueux de la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* L.

| Test                      | EHM | EE  |
|---------------------------|-----|-----|
| Polyphénols               | +   | +   |
| Flavonoïdes               | +   | +   |
| Alcaloïdes                | +   | +   |
| Stérols et triterpenoides | +   | +   |
| Tanins                    | +TG | +TC |
| Glycosides anthraquinones | +   | +   |
| Sucres réducteurs         | +   | +   |
| Saponines                 | -   | -   |
| Lipides                   | -   | -   |
| Coumarines                | -   | +   |

(+: présence, -: absence, EHM: extrait hydrométhanolique, EE: extrait aqueux à chaud)

(TG: tanins galliques, TC: tanins catéchiques)

Une autre étude publiée en 2021 a examiné l'étude phytochimque, l'activité antioxydante de *S.oleraceus* récoltée à la wilaya de Guelma, sur plusieurs extraits de la partie aérienne de la plante notamment : l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique qui ont été préparés à partir d'une extraction à froid de 20 g de la poudre de *S.oleraceus* dans 500 mL d'éthanol pendant 72 h, les extraits ont été filtrés, séchés et conservés au frais. De même, pour le dernier extrait aqueux, 20 g de la plante a été extraite dans 100 mL d'eau distillée pendant 4 heures jusqu'à ébullition (extraction à chaud) [18].

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode DPPH, le BHT (hydroxytoluène butylé) a été utilisé comme référence (tableau 6).

**Tableau 6 :** Potentiel antioxydant des extraits de S. oleraceus

| Différents extraits | IC50 (mg/mL) |
|---------------------|--------------|
| Méthanolique        | 0.05979      |
| Ethanolique         | 0.57367      |
| Aqueux (à chaud)    | 0.64697      |
| ВНТ                 | 0.01299      |

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

#### Chapitre 1 : Matériels et méthodes

#### 1. Objectif

Les plantes médicinales présentent une richesse naturelle assez importante dont la valorisation nécessite une connaissance approfondie de ses propriétés. Ces dernières dépendent de la présence de divers principes bioactifs. Dans cette partie, on s'est intéressé à l'une des espèces de la famille des Asteraceae : *Sonchus oleraceus* L. il est important de définir sa composition chimique et rechercher ses activités biologiques. Trois axes ont été envisagés : le premier axe concerne les tests phytochimiques. Dans le deuxième et le troisième, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante et étudier l'effet hémolytique des extraits de la partie aérienne de la plante. Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO).

#### 2. Plante utilisée « Sonchus oleraceus L. »

#### 2.1 Lieu et période de récolte

Cette plante sauvage connue sous le nom de laiteron maraîcher commence à pousser naturellement dans les régions occidentales de l'Algérie (ouest algérien).

La partie aérienne à étudier a été récoltée au mois de février à la cité des Amandiers, wilaya de Tlemcen.



**Figure 2 :** Zone géographique de lieu de récolte de *S. oleraceus* (Maps 2023)

#### 2.2 Reconnaissance botanique

Sonchus oleraceus L. a été identifiée par monsieur le professeur Hassani F.

C'est au niveau de laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels situé à l'université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen (la Rocade) que le professeur a déterminé de quelle espèce il s'agissait.

#### 2.3 Préparation du matériel végétal

Une fois la partie aérienne récoltée, elle a été séchée durant 3 à 4 jours à température ambiante et à l'abri du soleil pour préserver les substances présentes dans la plante. Après séchage, cette dernière a été découpée en petits morceaux afin de passer aux extractions.



Figure 3 : Tiges, feuilles et fleurs de la plante

#### 3. Récupération des extraits

En utilisant les feuilles, fleurs et tiges de *S.oleraceus*, l'extraction a été réalisée sous reflux avec 2 solvants différents notamment l'eau et l'éthanol.

Nous avons obtenu trois extraits:

- ✓ Extrait aqueux
- ✓ Extrait éthanolique
- ✓ Extrait hydroéthanolique

#### 3.1 Extraction sous reflux

Cette méthode d'extraction des principes actifs consiste à mettre une quantité de matière végétale dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant puis ajouter du solvant et porter l'ensemble à reflux durant 1 h. L'extrait obtenu est filtré sur papier filtre puis passé au séchage afin de conserver le résidu sec au frais pour des tests et analyses ultérieures [19].







Figure 4 : Montage à reflux, filtration et séchage

#### 3.1.1 Extrait aqueux

Peser 50 g de la plante et la mettre dans un ballon monocol, ajouter 500 mL d'eau pour que la plante soit immergée dans l'eau, placer le ballon sur le montage à reflux durant 1 h. On obtient un extrait de couleur verdâtre, on laisse refroidir ensuite on filtre avec un erlenmeyer + papier filtre. Répartir l'extrait aqueux sur des cristallisoirs et les mettre dans l'étuve à 30 °C pendant deux jours pour séchage. L'extrait déshydraté est enfin mis dans des piluliers au frigo.

#### 3.1.2 Extrait éthanolique

50 g de *S. oleraceus* est mélangée avec 520 mL d'éthanol (une quantité suffisante pour l'immersion du végétal) dans le ballon à reflux pendant 1 h. Laisser refroidir, filtrer l'extrait et le dispatcher dans des cristallisoirs pour passer au séchage. Une fois sec, mettre l'extrait dans un pilulier et conserver-le au frais.

#### 3.1.3 Extrait hydroéthanolique

Pour réaliser cette extraction, on mélange 250 mL d'eau avec 250 mL d'éthanol dans un ballon qui contient 50 g de la plante, porter le ballon sur le montage à reflux. Filtrer l'extrait obtenu après qu'il refroidisse, le filtrat est donc séché puis conservé au frigo dans un pilulier.

#### 3.1.4 Extraction des polyphénols

#### a) Première étape

Cette étape implique le dégraissage de la partie aérienne du matériel végétal. Pour ce faire, il convient de placer 50 g de *S. oleraceus* découpée en morceaux dans un ballon équipé d'un réfrigérant, ajouter 500 mL d'hexane. Le mélange est ensuite porté à reflux 1 h entière. Une fois le ballon est refroidi, récupérer la plante dégraissée et la mettre au séchage à l'air libre environ 2 à 3 jours.



Figure 5 : Plante dégraissée

#### b) Deuxième étape

Cette étape est réalisée pour extraire les composés phénoliques, cela nécessite de mettre la plante dégraissée séchée dans un ballon contenant 4 solvants différents : méthanol, éthanol, acétone à 70% v/v et de l'eau. Agiter et porter le mélange à reflux une trentaine de minutes. Après que l'extraction se termine, on obtient un extrait de couleur jaunâtre, le filtrat est donc distribué sur des cristallisoirs pour séchage. Une fois déshydraté, il est mis dans un pilulier qui se conserve au réfrigérateur [20].

#### 4. Rendements en extraits secs

Le rendement des extraits se définie comme une mesure exprimant le rapport entre la quantité d'extrait obtenue et la quantité de la plante utilisée pour extraction. Il s'exprime en pourcentages (%) [21].

#### 4.1 Rendements des extraits secs (aqueux, éthanolique, hydroéthanolique)

C'est le rapport de la masse de l'extrait sec obtenu sur la masse de la plante sèche traitée pour l'extraction.

Rendement d'extraction (%) = 
$$\left(\frac{\text{poids d'extrait sec}}{\text{poids de matières premières utilisées}}\right) \times 100$$

#### 4.2 Rendement de l'extrait polyphénolique

Il se détermine en calculant le rapport de la masse d'extrait polyphénolique sec sur la masse du matériel végétal dégraissé sec utilisée pour l'extraction.

Rendement des polyphénols (%) = 
$$\left(\frac{\text{masse d'extrait polyphénolique}}{\text{masse de plante dégraissée}}\right) \times 100$$

#### 5. Les analyses réalisées sur les extraits de S.oleraceus

#### 5.1 Screening phytochimique

Pour détecter la présence ou l'absence de diverses classes de composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les hétérosides, etc. Nous avons effectué des analyses phytochimiques ciblées basées sur des réactions de coloration, ou de précipitation, en utilisant les protocoles expérimentaux décrits dans la littérature [22].

#### • Les saponosides

Le test des saponosides peut être effectué de différentes manières, mais l'une des méthodes les plus courantes consiste à agiter l'extrait de la plante avec de l'eau pour former une mousse stable. La présence de saponosides dans l'extrait entraîne la formation de cette mousse [23].

#### • Les tanins

Afin de détecter la présence de tanins, quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1% sont ajoutées à 2 mL de chaque extrait. La présence des tanins est révélée par l'apparition d'un précipité de couleur bleu noir ou vert foncé. La couleur du précipité dépend de la quantité et de la nature des tanins présents [24].

#### Les hétérosides

En mélangeant 1 mL de chaque extrait avec 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré, la présence des hétérosides est mise en évidence par l'apparition d'une couleur rouge marron dans la couche d'interface.

#### • Les flavonoïdes

Pour mettre en évidence la présence des flavonoïdes dans chaque extrait, quelques millilitres de chaque échantillon sont traités avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. L'apparition d'une couleur rouge rose indique la présence des flavonoïdes [22].

#### • Les alcaloïdes

La démarche expérimentale pour chaque extrait consiste à mélanger 1 mL de celui-ci avec 5 mL d'HCl à 1%, chauffer le mélange à l'aide d'un bain-marie, filtrer la solution, puis ajouter quelques gouttes du réactif de Wagner. La formation d'un précipité est un indicateur de la présence d'alcaloïdes.

Pour mettre en place le réactif de Wagner, il convient de dissoudre 2 g de KI et 1,27 g d'I<sub>2</sub> dans 75 mL d'eau distillée, avant de compléter le volume final à 100 mL avec de l'eau distillée [22].

#### • Les polyphénols

Le test au FeCl<sub>3</sub> à 1% est une méthode largement utilisée et simple pour détecter la présence de polyphénols dans une solution.

Pour réaliser ce test, on ajoute quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1% à l'extrait. Si la solution contient des polyphénols, une coloration bleu noir ou verte apparaît en fonction de leur concentration. Cette coloration est due à la réaction entre le FeCl<sub>3</sub> et les groupes phénoliques présents dans les polyphénols [25].

#### 5.2 Evaluation chimique de l'activité antioxydante des extraits bruts

Les extraits obtenus de *S.oleraceus* peuvent avoir une activité antioxydante en raison de la présence des composés telle que les flavonoïdes, les composés phénoliques, etc.

Il existe plusieurs techniques pour mesurer le pouvoir antioxydant, pour cette étude, nous avons réalisé deux genres de méthodes : piégeage du radical libre DPPH et réduction du fer FRAP.

#### 5.2.1 Piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine) est un composé radicalaire qui est souvent utilisé pour l'estimation de l'activité antioxydante des composés. Ce radical a une couleur violet foncé intense et une forte absorbance dans le spectre visible (515-520 nm) [26].

#### a) Principe

En présence des composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et devient un composé non radicalaire DPPH-H en transformant sa couleur de violet foncé à jaune pâle [27]. Cette réduction est accompagnée d'une diminution de son absorbance à 517 nm dans le spectre visible [28].

**AH:** indique le composé capable de donner de l'hydrogène (H) au radical DPPH pour le transformer au DPPH-H.

Figure 6 : La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

#### b) Protocole suivi

#### • Préparation de la solution DPPH

Pour ce faire, une quantité de 0.006 g est pesée et mise dans une fiole jaugée de 100 mL, la remplir avec de l'éthanol jusqu'à trait de jauge, agiter pour solubiliser le mélange, ensuite la fiole est fermée, recouverte avec un papier d'aluminium et placée au frais pendant 30 min. L'absorbance est mesurée par un appareil spectrophotomètre UV-VISIBLE à 517 nm et doit être dans cet intervalle [0.6-1 nm] [27].

#### • Préparation des dilutions

Dissoudre 0.005 g de chaque extrait dans 5 mL d'éthanol. Les différentes dilutions sont préparées à partir de la solution mère avec de l'éthanol pour obtenir des solutions filles des différentes concentrations.

#### Dosage

Dans des cuves colorimétriques, 1 mL de la solution éthanolique de DPPH est ajoutée à 1 mL de chaque dilution des extraits de *S.oleraceus*. Laisser incuber les cuves durant une trentaine de minutes à l'obscurité à température ambiante. La lecture de l'absorbance est effectuée après le temps d'incubation par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm.

De même pour la référence qui est l'acide ascorbique (contrôle positif), le contrôle négatif (1 mL d'éthanol + 1 mL de solution éthanolique de DPPH) et le blanc (éthanol) [29].

#### c) Expression des résultats

#### Calcul du pourcentage d'inhibition

Les pourcentages d'inhibitions des différents extraits sont calculés selon l'expression cidessous [29].

$$\%(inhibition) = \frac{DO (contrôle-) - DO (extrait)}{DO (contrôle-)} \times 100$$

#### • Détermination des CI50

Le CI50 (appelé aussi EC50-efficient concentration 50) indique la concentration d'un extrait nécessaire pour inhiber ou éliminer la moitié (50%) des radicaux libres. On l'obtient graphiquement à partir d'une courbe linéaire (les pourcentages d'inhibitions en fonction des différentes concentrations des extraits) [30].

Une faible valeur de CI50 indique que l'extrait possède un pouvoir antiradicalaire élevé [29].

#### • Calcul de CI50

Cette notion exprime la concentration efficace de l'extrait exigée pour inhiber 50% de l'absorbance du radical libre DPPH\*, sa valeur est déduite graphiquement à partir des équations des courbes tracées.

Le CI50 est inversement lié à l'effet antioxydant de l'extrait, plus sa valeur est faible plus la capacité du pouvoir antioxydant est importante [31].

#### • Calcul de l'AAR

L'A<sub>AR</sub> présente le pouvoir antiradicalaire de l'extrait, il n'est pas mesurable directement, il se calcule selon la manière qui suit [32].

$$A_{AR} = \frac{1}{CI50}$$

Plus ces deux valeurs sont proches de celles de la vitamine C et plus l'activité antioxydante de l'extrait est forte [33].

#### **❖** Appareil UV-VISIBLE

La spectroscopie d'adsorption UV-VISIBLE est une technique fréquemment utilisée dans les laboratoires pour mesurer la capacité des molécules à absorber la lumière à des longueurs d'ondes spécifiques, généralement comprise entre 10 et 800 nm. Cette méthode permet de mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance, ce qui permet d'évaluer sa concentration. Plus la concentration de l'échantillon est élevée, plus il absorba de la lumière, ce qui traduira par une augmentation de l'absorbance mesurée.



Figure 7: Spectrophotomètre UV-VISIBLE

#### 5.2.2 Réduction du fer FRAP

La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) permet de déterminer le pouvoir antioxydant des échantillons en se fondant sur une réaction d'oxydo/réduction qui repose sur un transfert d'électron afin de réduire le fer.

#### a) Principe

Cette méthode repose sur la réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe<sup>2+</sup> en présence d'antioxydants. Cette réaction est identifiable grâce à la coloration jaune du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>), qui se transforme en une coloration bleu vert du fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) lorsque des antioxydants sont présents. L'intensité de cette coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 700 nm [34].

**Figure 8 :** La réaction de réduction des ions Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> favorisée par la présence d'un antioxydant

#### b) Protocole

La méthode de la préparation des solutions pour le test FRAP consiste à suivre plusieurs étapes.

- Tout d'abord, pour préparer la solution tampon phosphate (0,2 mol, pH=6,6), il nécessite de dissoudre 13,608 g de dihydrogénophosphate de potassium dans 500 mL d'eau distillée, puis de dissoudre 14,19 g d'hydrogénophosphate de sodium dans 500 mL d'eau distillée. Ensuite, les deux solutions doivent être mélangées soigneusement.
- Pour la préparation de la solution K<sub>3</sub>Fe(CN) <sub>6</sub> à 1%, il suffit de prendre 1g de ferricyanure de potassium (1%) et de le mettre dans une fiole jaugée de 100 mL en ajoutant de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- La solution d'acide trichloracétique à 10% se prépare en dissolvant 10 g d'acide trichloracétique dans une fiole jaugée de 100 mL, puis en complétant avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- Enfin, pour préparer la solution de chlorure ferrique (0,1%), il suffit de peser avec précision 0,1 g de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) dans une fiole de 100 mL, puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.



Figure 9 : Les solutions préparées

#### Dosage

Pour réaliser le test FRAP, nous ajoutons 1 mL d'un échantillon à différentes concentrations suivis de 0,5 mL d'une solution tampon de phosphate (0,2 mol, pH=6,6) et 0,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] (1%). Nous incubons le mélange à 50 °C pendant 20 min dans une étuve. Après l'incubation, 0,5 mL d'acide trichloracétique à 10% est ajouté pour arrêter la réaction. Nous centrifugeons le mélange pendant 10 min à 3000 tours/min. 1 mL du surnageant de chaque concentration est prélevé et mélangé avec 1 ml d'eau distillée et 0,2 mL d'une solution de chlorure ferrique (0,1%). Un tube de contrôle est également préparé, qui contient toutes les solutions FRAP sans l'échantillon à tester ainsi qu'un blanc contenant uniquement de l'eau distillée pour calibrer le spectrophotomètre (UV/VISIBLE), nous mesurons l'absorbance à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique une réduction accrue du fer [35].

#### 5.3 Etude de l'activité hémolytique

L'évaluation de l'effet hémolytique de notre plante étudiée *S. oleraceus* est effectuée in vitro à des concentrations différentes dans une suspension de globules rouges humaines (suspension érythrocytaire) dans le PBS (solution saline tamponnée de phosphate).

#### a) Principe

La méthode de l'effet hémolytique est basée sur la mesure de l'absorbance à 548 nm de l'hémoglobine qui est présente dans le surnageant obtenu après centrifugation du milieu d'incubation des globules rouges [36].

#### b) Préparation de solution tampon phosphate saline (PBS)

En combinant les composés suivants à leurs concentrations respectives : NaCl (137 mmol), KCl (2,7 mmol), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (10 mmol) et KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.8 mmol), nous avons préparé une solution tampon phosphate saline (PBS) ayant un pH de 7,4.

#### c) Préparation de la suspension érythrocytaire

Pour préparer la suspension érythrocytaire, du sang est prélevé dans un tube héparine chez un donneur sain. Après centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 min nous avons

#### Chapitre 1 : Matériels et méthodes

éliminé le plasma (surnageant) et lavé le culot trois fois avec du PBS avant d'être resolubilisé dans le même volume de plasma éliminé. Enfin, nous avons dilué la suspension érythrocytaire obtenue 10 fois avec du PBS.



Figure 10 : Sang après centrifugation

#### d) Préparation des extraits

Les extraits ont été préparés dans le PBS à des concentrations de 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL et 1,56 mg/mL.

#### e) Protocole du test d'hémolyse

- Dans des tubes à hémolyses, préparer un volume de 0.4 mL de la suspension érythrocytaire avec 1.6 mL de l'extrait à des différentes concentrations.
  - Incuber les tubes durant 1 h à température ambiante 37 °C.
- Après 1 h d'incubation, les tubes sont centrifugés pendant une dizaine de minutes à 3000 tours/min.
- •La lecture des absorbances est effectuée dans des cuves à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VISIBLE à une longueur d'onde spécifique (548 nm) et contre un blanc contenant la solution PBS.
- Un témoin négatif (0.4 mL de SE + 1.6 mL de PBS), un témoin positif (0.4 mL de SE + 1.6 mL d'eau distillée) et l'acide gallique (molécule de référence) sont réalisés dans les mêmes conditions et en suivant les étapes précédentes [37].

#### f) Expression des résultats d'hémolyse

Les résultats d'hémolyse des différents extraits à plusieurs concentrations sont exprimés sous forme des pourcentages qui sont calculés selon la forme ci-dessous [37].

$$\textbf{Taux d'h\'emolyse} = \frac{\text{DO (extrait)} - \text{DO (t\'emoin n\'egatif)}}{\text{DO (t\'emoin positif)}} \ \ x \ 100$$

#### Chapitre 2 : Résultats et interprétations

#### 1. Rendement en extraits secs

Les différents rendements d'extraction des différents extraits de la partie aérienne de *S.oleraceus* ont été calculés à partir de la matière végétale sèche traitée. Chaque extrait sec (Figure 11) a été caractérisé par son aspect et sa couleur. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 7.





Figure 11: Les extraits secs

Tableau 7: Propriétés des extraits secs

| Extraits         | Aspect physique     | Couleur      | Rendement (%) |
|------------------|---------------------|--------------|---------------|
| Aqueux           | Poudre cristallisée | Marron       | 10            |
| Ethanolique      | Pâte                | Verte foncée | 6             |
| Hydroéthanolique | Poudre              | Verte foncée | 10            |
| Polyphénolique   | Poudre              | Marron foncé | 12            |

Les résultats résumés dans le tableau ci-dessus montrent que l'ensemble des extraits secs de la partie aérienne de *S. oleraceus* sont récupérés sous forme de poudre ou de pâte, de couleur marron foncé ou verte. Les différents rendements d'extraits secs varient entre 6 et 12%, l'extrait de polyphénols donne le rendement le plus important (12%), suivi par l'extrait aqueux et l'extrait Hydroéthanolique avec un rendement de 10%. Tandis que l'extrait éthanolique présente le plus faible rendement (6%) (Figure 12).

Chapitre 2 : Résultats et interprétations

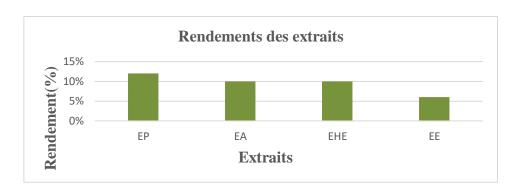


Figure 12 : Rendements des différents extraits secs de la plante

(EP: extrait polyphénolique, EA: extrait aqueux, EE: extrait éthanolique, EHE: extrait hydroéthanolique)

Après avoir consulté plusieurs travaux réalisés sur *S.oleraceus* à propos des rendements d'extraction, il apparait que le rendement d'un extrait dépend de plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction (à chaud ou à froid), le solvant d'extraction (éthanol, méthanol, eau, acétone...), la durée de l'extraction (des heures ou quelques jours), la température (basse ou haute), ainsi que l'origine géographique, le lieu de la collecte et la période de séchage de la plante [27]. Il est donc difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie.

#### 2. Les tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques que nous avons trouvés pour identifier les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* L., sont rapportés en fonction du type de réaction observé (tableau 8).

Les tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits de *S.oleraceus* indiquent la présence, des tanins ; des hétérosides et des alcaloïdes. Les saponosides ne sont présents que dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique. Tandis que les flavonoïdes sont absents dans l'ensemble des extraits.

Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques sur les extraits de Sonchus oleraceus L.

| Test Extrait | Aqueux | Ethanolique | Hydroéthanolique |
|--------------|--------|-------------|------------------|
| Saponosides  | +      | +           | -                |
| Tanins       | +      | +           | +                |
| Hétérosides  | +      | +           | +                |
| Flavonoïdes  | -      | -           | -                |
| Alcaloïdes   | +      | +           | +                |

#### > Test des Saponosides

Les résultats ont mis en évidence la présence des saponosides. En effet, la hauteur de mousse obtenue a été observée supérieure à 1 cm dans les deux extraits aqueux et éthanolique, tandis que dans l'extrait hydroéthanolique ils ne sont pas détectables.

#### > Test des tanins

Les tests phytochimiques que nous avons réalisés ont révélé une forte présence des tanins dans tous les extraits obtenus sous reflux de *S.oleraceus*. Cette présence a été confirmée par l'observation d'une coloration vert noirâtre caractéristique des tanins.

#### > Test des hétérosides

Les résultats obtenus révèlent la présence des hétérosides identifiables par une coloration rouge marron observée dans la couche d'interface des trois extraits.

#### > Test des flavonoïdes

On observe l'absence totale des flavonoïdes dans les trois extraits, ce qui se confirme par l'absence de toute coloration rose lors des tests phytochimiques réalisés.

#### > Test des alcaloïdes

Le test de détection des alcaloïdes ont été effectués à l'aide du réactif de Wagner sur les trois extraits de *S.oleraceus*. Les résultats ont montré la présence d'un précipité, confirmant ainsi la présence d'alcaloïdes dans les extraits testés.

#### > Test des polyphénols

Nous avons observé une nette présence de ces derniers dans la plante de *S.oleraceus*, confirmée par l'apparition d'une coloration verte.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que certains métabolites secondaires ne sont présents que dans certains extraits de la plante et cela varient selon le solvant d'extraction.

#### 3. Estimation des propriétés antioxydantes des différents extraits de la plante

#### 3.1 Piégeage du radical libre DPPH

Le pouvoir antioxydant des extraits de la partie aérienne de la plante ainsi que la référence qui est l'acide ascorbique (vitamine C) a été déterminé par spectrophotométrie dont le radical libre DPPH se réduit et sa couleur vire du violet foncé à jaune pâle à une longueur d'onde de 517 nm.



**Figure 13 :** Changement de couleur des extraits en présence de DPPH

Chapitre 2 : Résultats et interprétations

80<sup>y</sup>

C : EP

%d'ihnibitions

%d'ihnibitions

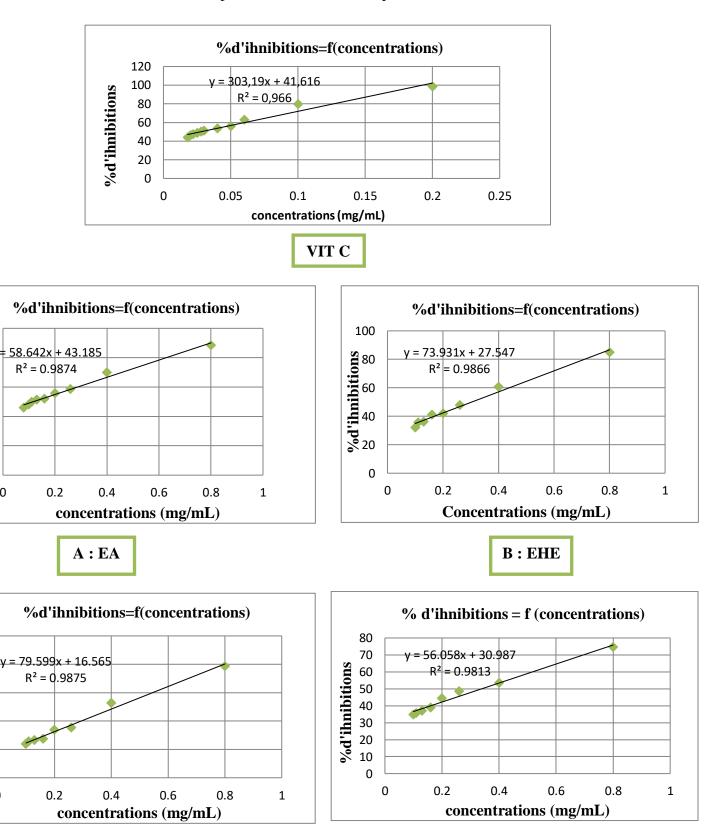


Figure 14: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits de S. oleraceus et de VIT C

D: EE

#### Chapitre 2 : Résultats et interprétations

A partir des résultats obtenus, nous constatons une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibitions du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits ainsi que la vitamine C (figure 14). Nous avons obtenu des courbes linéaires par lesquelles nous avons calculé les valeurs concentrations nécessaires pour réduire 50% du radical libre DPPH (CI50). L'activité antiradicalaire ( $A_{AR}$ ) a été déterminée par le calcul de l'inverse des valeurs des CI50. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 9.

| Extraits étudiés | VIT C | EA   | ЕНЕ  | EP   | EE    |
|------------------|-------|------|------|------|-------|
| CI50 (mg/mL)     | 0.027 | 0.11 | 0.30 | 0.34 | 0.420 |
| A <sub>AR</sub>  | 37.03 | 9.09 | 3.33 | 2.94 | 2.38  |

**Tableau 9 :** Les valeurs de CI50 et d'AAR des différents extraits de *S. oleraceus*.

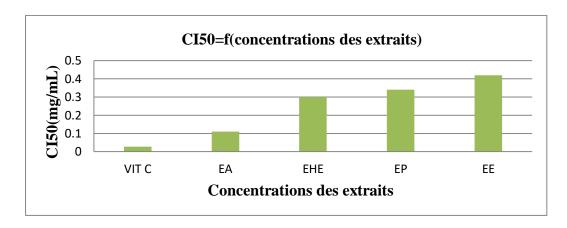


Figure 15 : Les différentes valeurs de CI50 des différents extraits et de VIT C

Les résultats obtenus auparavant indiquent que les valeurs des CI50 des différents extraits sont compris entre [0.11-0.420 (mg/mL)] de même pour le pouvoir antiradicalaire [2.38-9.09 (mg/mL)] en comparaison avec l'acide ascorbique (la référence) qui a une valeur de CI50=0.027 mg/mL,  $A_{AR}$  =37.03.

Il a été démontré que l'extrait aqueux possède le potentiel antioxydant le plus fort avec une CI50 de 0.11 mg/mL en comparaison avec la référence (l'acide ascorbique) , l'extrait hydroéthanolique est doté d'un pouvoir antioxydant plus faible que celui de l'extrait aqueux (0.30 mg/mL) suivie de l'extrait de polyphénols qui présente un effet antiradicalaire légèrement faible que l'extrait précédent (0.34 mg/mL), et enfin l'extrait éthanolique avec l'activité antioxydante la plus petite CI50=0.420 mg/mL.

Dans une étude réalisée en 2007 par JIE et al, un test DPPH a été effectué sur différents extraits de *S.oleraceus* dont : le méthanol, 70% méthanol, éthanol, 70% éthanol et l'eau et a déduit les valeurs mentionnées dans le tableau ci-dessous (tableau 10).

L'extrait aqueux (à chaud) a été obtenu après une extraction à une température de 100 °C pendant 3 h de *S.oleraceus* (une poudre), et le reste des extraits a été obtenu à partir d'une extraction à froid pendant 2 jours à température ambiante dans un incubateur à agitation [38].

| Différents extraits  | CI50 (mg/mL) |
|----------------------|--------------|
| 70% méthanol-30% eau | 0.0471       |
| Aqueux (à chaud)     | 0.0527       |
| 70%éthanol-30%eau    | 0.058        |
| méthanolique         | 0.1068       |
| Aqueux (à froid)     | 0.1169       |
| éthanolique          | 0.2105       |

**Tableau 10 :** Valeurs de CI50 des différents extraits

Ces résultats montrent que l'extrait qui possède le pouvoir antioxydant le plus important est l'extrait mixte de méthanol et d'eau, suivi par l'extrait aqueux obtenu à chaud. Les extraits mixtes possèdent une activité remarquable par rapport aux extraits purs (aqueux, méthanolique et éthanolique), ces estimations sont en différence avec les nôtres, car ils ont trouvé que l'extrait aqueux à chaud est doté d'un pouvoir antioxydant plus fort que l'extrait éthanolique et dans notre étude, nous avons trouvé le contraire avec modération, cette différence confirme que la méthode d'extraction (à chaud ou à froid, le temps, la température utilisée, poudre ou plante coupée) influe sur les résultats trouvés.

#### 3.2 Pouvoir réducteur du fer

Nous avons utilisé la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) pour évaluer le pouvoir réducteur de fer des différents extraits de la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* L., l'acide ascorbique (vitamine C) en tant que référence. Cette méthode est basée sur le pouvoir des extraits à réduire le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup>. Par conséquent, cette réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits et elle est mesurable à 700 nm. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes linéaires.

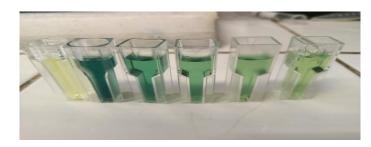
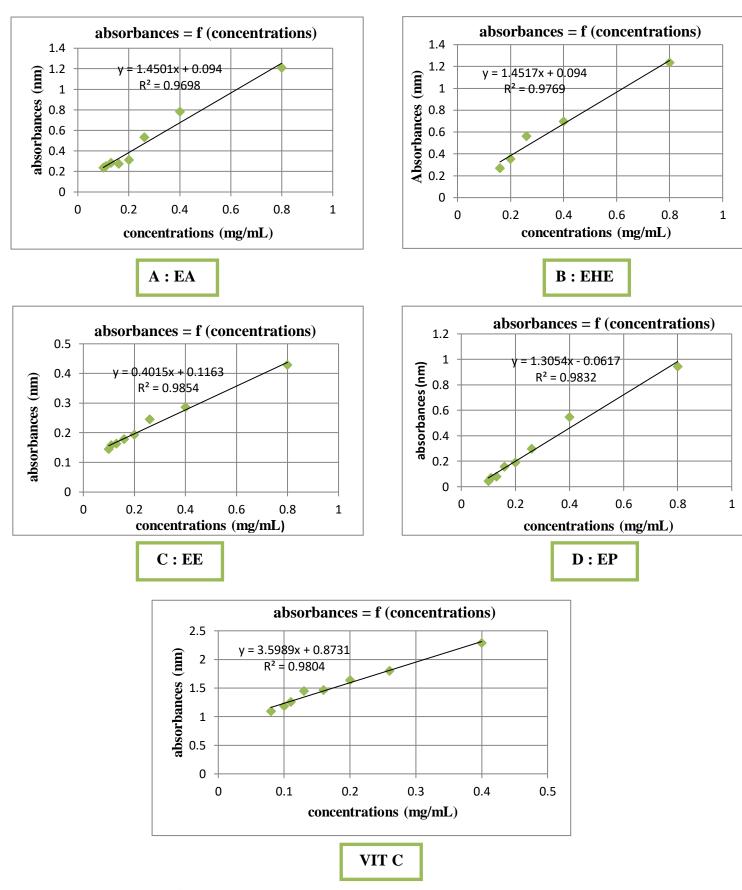


Figure 16 : Changement de couleur des extraits en présence de fer



**Figure 17 :** Augmentation des absorbances en fonctions des concentrations de différents extraits de *S. oleraceus* et de VIT C

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *Sonchus oleraceus* L., possèdent le pouvoir réducteur de fer le plus élevé par rapport aux autres extraits avec des Abs de 1.235 nm et 1.208 nm respectivement à la concentration de 0.8 mg/mL. Ce pouvoir réducteur reste plus faible que celui de l'acide ascorbique qui présente à la concentration de 0.11 mg/mL une Abs=1.257 nm.

Ces résultats confirment les résultats du test de piégeage du radical libre DPPH et nous permettent de conclure que les quatre extraits de *Sonchus oleraceus* L. présentent un fort pouvoir réducteur du fer.

Lors d'une étude réalisée par JIMOH et d'autres scientifiques en 2011, le test FRAP a été effectué sur différents extraits (acétonique, méthanolique et aqueux) de *Sonchus oleraceus* L. Les trois extraits ont été obtenus à partir d'une extraction à froid, effectuée à température ambiante (environ 24 °C) pendant une durée de 18 à 24 h. Selon les résultats obtenus, l'extrait méthanolique est le plus actif, suivi par l'extrait acétonique qui à son tour dépasse celle de l'extrait aqueux [16].

Cette observation confirme que les résultats obtenus sont influencés par la méthode d'extraction, qu'elle soit réalisée à chaud ou à froid, ainsi que par des facteurs tels que la durée, la température, etc.

### 4. Evaluation de l'effet hémolytique

Certaines plantes employées à des fins thérapeutiques peuvent constituer un danger pour la santé humaine, alors il est primordial d'évaluer leurs effets hémolytiques, car même si la plante possède une forte capacité antioxydante, son utilisation comme remède traditionnel est impossible à cause d'une hémolyse qui indique une cytotoxicité [37].

Le test d'hémolyse des extraits de la partie aérienne de *S.oleraceus* (extrait aqueux, extrait éthanolique, extrait hydroéthanolique, extrait de polyphénols) a été effectué in vitro en mesurant les absorbances à 548 nm après une incubation de 60 min à 37 °C, dans un milieu tampon PBS (pH 7,4), contenant une suspension érythrocytaire, et en présence de différentes concentrations des extraits (25 mg/mL, 12.5 mg/mL, 8.33 mg/mL, 6.25 mg/mL. 5 mg/mL). Les mêmes étapes sont appliquées pour l'acide gallique qui est utilisé comme référence.

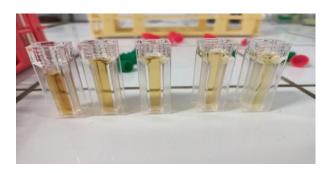
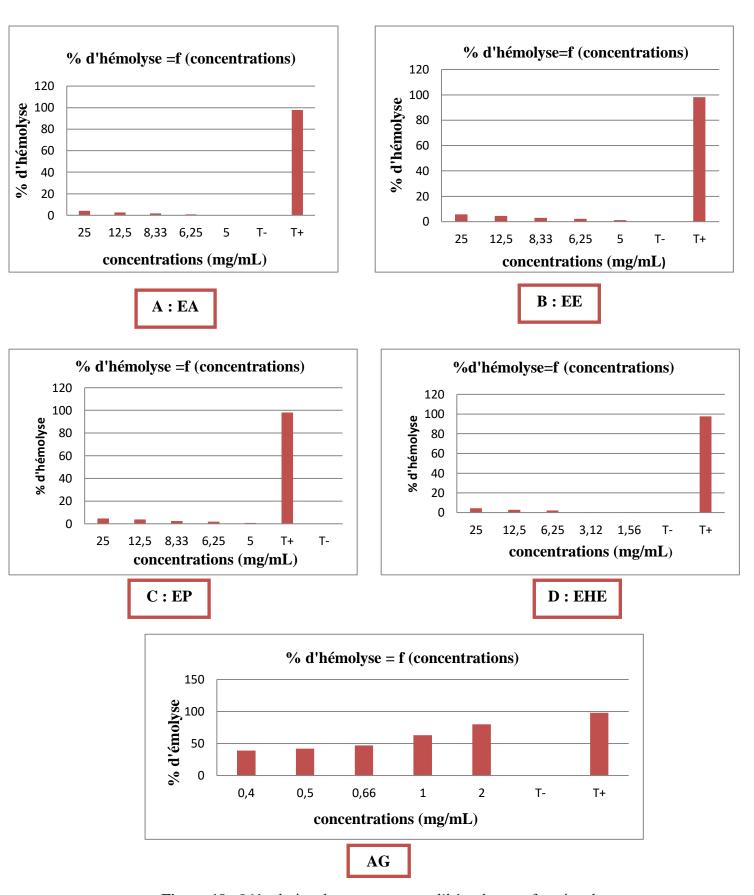




Figure 18 : Hémolyse à différentes concentrations et Les témoins T+ et T-



**Figure 19 :** L'évolution des pourcentages d'hémolyse en fonction des concentrations des extraits de *S. oleraceus* et d'AG

#### Chapitre 2 : Résultats et interprétations

D'après les histogrammes obtenus à partir des différents extraits de la plante, on constate que les taux d'hémolyse sont en croissance avec l'augmentation des concentrations des extraits, il y a donc une relation de proportionnalité entre ces deux grandeurs (concentration et pourcentage).

Après 60 min d'incubation, le taux d'hémolyse des extraits de *S. oleraceus* est compris entre 0.11 et 5.88%. C'est un taux faible par rapport à celui de l'acide gallique qui possède à sa concentration maximale de 2 mg/mL un effet hémolytique très puissant de l'ordre de 80% (Figure 19).

Dans la concentration maximale (25 mg/mL), l'extrait aqueux possède l'effet hémolytique le plus faible avec un pourcentage de 4.29% suivi par l'extrait hydroéthanolique avec un pourcentage de 4.53%, et en troisième position l'extrait de polyphénols qui présente une hémolyse de 4.82% toujours assez faible par rapport à l'acide gallique. Enfin, l'extrait éthanolique a enregistré le taux d'hémolyse le plus élevé (5.88%) mais qui reste très faible en comparaison avec celui de l'acide gallique.

Ces extraits présentent un effet toxique très faible, même à des concentrations plus fortes et après 60 min d'incubation, face aux érythrocytes humains isolés (globules rouges).

#### **Conclusion et perspectives**

Depuis des millénaires, les propriétés médicinales de nombreuses plantes ont été utilisées et font partie de l'héritage traditionnel et médical de tous les peuples. Ainsi, pouvoir se soigner avec les plantes est une grande satisfaction pour de nombreuses personnes.

Dans le but de trouver des composés naturels à activité biologique, une plante algérienne de la famille des Astéraceae, *Sonchus oleraceus* L., traditionnellement utilisée pour traiter les maladies hépatiques et dermatologiques, a été soumise à une étude phytochimique, biologique et toxicologique des extraits obtenus à partir des différents solvants (éthanol et eau) par une extraction à chaud (sous reflux), en plus de l'extraction de polyphénols.

Ce travail vise à couvrir trois aspects majeurs : le premier est une étude phytochimique de *S.oleraceus* afin d'identifier les composés présents dans la plante, le deuxième aspect concerne une évaluation biologique expérimentale pour déterminer l'activité antioxydante. Enfin, le troisième est une évaluation toxicologique pour estimer le pouvoir hémolytique des extraits de la plante face aux globules rouges humaines.

Nous avons obtenu quatre extraits (aqueux, éthanolique, hydroéthanolique et polyphénolique) d'aspects et couleurs différents avec des rendements compris entre 6 et 12%.

Le screening phytochimique a permis de révéler d'une part la présence de divers composés dans la partie aérienne de la plante tels que : les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, les hétérosides et d'autre part l'absence des flavonoïdes.

Les capacités antioxydantes *in vitro* des extraits sont mesurées en utilisant deux tests : test de piégeage de radical libre DPPH et test de réduction de fer FRAP.

Les tests DPPH et FRAP ont montré que l'extrait aqueux possède le meilleur potentiel antioxydant en raison de sa richesse en métabolites secondaires, mais reste faible par rapport à la vitamine C.

Le test de toxicité face aux érythrocytes humains indique que tous les extraits possèdent un pourcentage d'hémolyse très faible même à une forte concentration et après 1 h d'administration en comparaison avec l'acide gallique.

Les résultats de cette étude sont encouragés et ouvrent la voie à de nouvelles perspectives telles que :

Isoler et identifier les molécules actives contenues dans les extraits en utilisant des techniques chromatographiques et spectrophotométriques. Ces molécules actives pourraient ensuite être utilisées en biotechnologie, notamment dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, en remplaçant les antioxydants synthétiques qui présentent des risques pour la santé humaine.

Des études *in vivo* peuvent être réalisées pour évaluer l'activité antioxydante ainsi que l'effet hémolytique de *sonchus oleraceus* L. chez l'homme ou chez des modèles animaux. Ces

études peuvent impliquer l'administration d'extraits de la plante dans l'alimentation ou sous forme de suppléments, suivi de la mesure des marqueurs d'oxydation et d'inflammation dans le sang ou les tissus.

La réalisation *in vitro* des différents tests biologiques telles que : le test antibactérien, anti-inflammatoire.

#### Références bibliographiques

- **1.** CHABRIER, J. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Université Henri Poincaré Nancy 1. Thèse de doctorat .2010.
- **2.** CHEVALIER, A. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Larousse.2001.
- **3.** AISSANI, F. Caractérisation phytochimique, valorisation biologique et toxicologique des différents extraits d'une espèce Algérienne *Sonchus oleraceus* L. Université 8 Mai 1945 Guelma. Thèse de doctorat.2022.
- **4.** RADJAH, A. Valorisation et identification phytochimique des principes actifs de quelques plantes médicinales de la région de Biskra. Université Mohamed Kheider-Biskra. Thèse de doctorat.2020.
- **5.** FERRARI, J. Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata Steud*. ex A. Rich. Université de Lausanne. Thèse de doctorat. 2002.
- **6.** HADDOUCHI, F., BENMANSOUR, A. Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire, vol. 3, n° 8 : 20-27. 2008.
- **7.** ADOUANE, S. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Université Mohamed Khider-Biskra. Thèse de doctorat. 2016.
- **8.** SCHEIDEGGER, J., CHERBULIEZ, E. L'hédéracoside A, un nouvel hétéroside extrait du lierre (*Hedera helix* L.). Helvetica Chimica Acta, vol. 38, n° 2 : 547-556.1955.
- **9.** BOUZID, W., YAHIA, M., ABDEDDAIM, M. et al. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. Lebanese Science Journal, vol. 12, n° 1 : 59-69. 2011.
- **10.** HAMMOUDI, R. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Thèse de doctorat.2015.
- **11.** PALICI, I. Valorisation des Activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines. Université de Médecine & de Pharmacie de Timisoara, Roumanie. Thèse de doctorat. 2016.
- **12.** OBAME ENGONGA, L. Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. Université de Ouagadougou. Thèse de doctorat. 2009.
- **13.** HEDJAZI, N., AFOUFOU, S. Etude ethnobotanique et évaluation des activités biologiques des plantes .Université Larbi Tébessi-Tébessa. Thèse de doctorat.2022.
- **14.** GUIL, J., RODRIGUEZ-GARCIA, I., TORIJA, E. Giménez-Giménez. Nutritional composition of *Sonchus species* (*S asper* L, *S oleraceus* L and *S tenerrimus* L). Journal Of The Science Of Food and Agriculture, vol.76, n°4: 628-632.1998.
- **15.** MADIGAN, M., CLARK, D., STAHL, D. et al. Brock Biology of Microorganisms 13th Edition. 2010.
- **16.** JIMOH, F., ADEDAPO, A., AFOLAYAN, A. Comparaison de la valeur nutritive, des activités antioxydantes et antibactériennes de *Sonchus asper* et *Sonchus oleraceus*. Registres des produits naturels, vol. 5, n° 1 : 29-42.2011.

- **17.** AISSANI, F., GRARA, N., GUELMAMENE, R. phytochemical screening and toxicity investigation of hydro-methanolic and aqueous extracts from aerial parts of *Sonchus oleraceus* L. in swiss albino mice. Comparative Clinical Pathology, vol. 31, n° 3: 509-528. 2022.
- **18.** AISSANI, F., GRARA, N., BENSOUICI, C. et al. Algerian *Sonchus oleraceus* L.: a comparison of different extraction solvent on phytochemical composition, antioxidant properties and anti-cholinesterase activity. Advances in Traditional Medicine, vol. 22: 383-394.2021.
- **19.** HIMOUR, S., YAHIA, A., BELATTAR, H. et al. Etude phytochimique des feuilles d'*Olea europaea* L. var Chemlel d'Algérie. Journal of Biores. Valorization, vol. 1, n° 1: 34-38. 2016.
- **20.** MAHMOUDI, S., KHALI, M., MAHMOUDI, N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Revue Nature & Technology, n°9 : 35-40.2013.
- **21.** KADI, K., HAMLI, S., ZERAIB, A. et al. Effet antibactérien des extraits de *Thymelaea hirsuta* L. Revue des Régions Arides, n°43 : 19-21. 2016.
- **22.** HADDOUCHI, F., CHAOUCHE, T., HALLA, N. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, vol. 16, n° 1 : 254-262.2018.
- **23.** HIMOUR, S., YAHIA, A., BELATTAR, H. et al. Etude phytochimique des feuilles d'*Olea europaea* L. var Chemlel d'Algérie. J. of Biores. Valorization, vol. 1, n° 1 : 34-38.2016.
- **24.** DAIRA, N., MAAZI, M., CHEFROUR, A. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, vol. 85, n°1 : 276-290.2016.
- **25.** GHEDADBA, N., HAMBABA, L., AYACHI, A. et al. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie, vol. 13, n° 2 : 118-129.2015.
- **26.** BOZIN, B., MIMICA-DUKIC, N., SAMOJLIK, I. et al. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Chimie alimentaire, vol.111, n°4: 925-929. 2008.
- **27.** FETTAH, A. Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antibactérienne et antioxydante) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Université de Biskra-Mohamed Khider. Thèse de doctorat.2019.
- **28.** GACHKAR, L., YADEGARI, D., BAGHER, M. et al. Caractéristiques chimiques et biologiques des huiles essentielles *Cuminum cyminum* et *Rosmarinus officinalis*. Chimie alimentaire, vol. 102, n° 3 : 898-904.2007.
- **29.** DIENG, S., FALL, A., DIATTA-BADJI, K. et al. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii Schumach*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, vol. 11, n° 2:768-776.2017.
- **30.** TABET ZATLA, A. Caractérisations chimiques et étude biologiques de quatre plantes aromatiques" *Daucus. carota ssp. sativus, Marrubium vulgare, Ballota nigra* et *Cynoglossum cheirifolium*" de la région de Tlemcen. Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen. Thèse de doctorat.2017.

- **31.** TOUAIBIA, M., CHAOUCH, F. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei Batt* et *Trab*. (Myrtaceae). Algérie .International Journal of Innovation and Applied Studies, vol. 6, n° 3: 407-413.2014.
- **32.** FAGBOHOUN, L., SAKIRIGUI, A., FATONDJI, H. et al. Activité antioxydante et cytotoxicité des colorants extraits de cinq plantes tinctoriales du Bénin contre les lignées cellulaires cancéreuses MCF-7 et IGROV. Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine, vol. 21, n°1 : 66-77. 2022.
- **33.** BOUZID, D. Évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Université Ferhat Abba Sétif 1. Thèse de doctorat.2018.
- **34.** BENTABET, N., BOUCHERIT-OTMANI, Z., BOUCHERIT, K. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia* aretioides de la région de Béchar en Algérie. Phytothérapie, vol. 12, n° 6 : 364-371.2014.
- **35.** DIENG, S., FALL, A., DIATTA-BADJI, K. et al. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii Schumach*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, vol. 11, n° 2 : 768-776. 2017.
- **36.** MPIANA, P., TSHIBANGU, S., NGBOLUA, K. Les alicaments et la drépanocytose: une mini-revue. Comptes Rendus Chimie, vol. 19, n° 7 : 884-889.2016.
- **37.** HADDOUCHI, F., CHAOUCHE, T., HALLA, N. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, vol. 16, n°1 : 1-9.2018.
- **38.** JIE, Y., GU-JOONG, K., WANG, M. Les activités antioxydantes et cytotoxiques des extraits de *Sonchus oleraceus* L. Nutrition research and practice, vol. 1, n° 3: 189-194.2007.

# Annexes Les tests phytochimiques

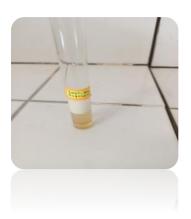






Figure 1 : Test des saponosides sur les trois extraits (EA, EE, EHE)





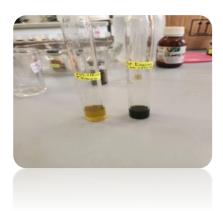


Figure 2: Test des tanins sur les trois extraits (EA, EE, EHE)





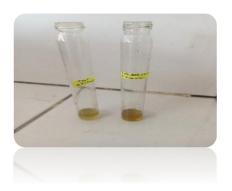


Figure 3: Test des hétérosides sur les trois extraits (EA, EE, EHE)







Figure 4 : Test des flavonoïdes sur les trois extraits (EA, EE, EHE)







Figure 5: Test des alcaloïdes sur les trois extraits (EA, EE, EHE)



Figure 6: Test des tanins sur l'extrait polyphénolique

### **Test de DPPH**

# **VIT** C (contrôle = **0.706**)

| [C] (mg/mL) | 0.2   | 0.1   | 0.06  | 0.05  | 0.04  | 0.03  | 0.028 | 0.025 |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 0.011 | 0.145 | 0.262 | 0.311 | 0.328 | 0.344 | 0.353 | 0.363 |
|             |       |       |       |       |       |       |       |       |
| I (%)       | 98.36 | 79.45 | 62.87 | 55.98 | 53.54 | 51.23 | 49.96 | 48.55 |
|             |       |       |       |       |       |       |       |       |

# EP (contrôle = 0.706)

| [C]<br>(mg/ml) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  | 0.13  | 0.11  | 0.1   |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)        | 0.178 | 0.327 | 0.362 | 0.391 | 0.430 | 0.443 | 0.452 | 0.459 |
| I (%)          | 74.78 | 53.69 | 48.75 | 44.61 | 39.07 | 37.20 | 35.89 | 34.99 |

# **EA** (**contrôle** = **1.01**)

| [C]     | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  | 0.13  | 0.11  | 0.1   |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (mg/ml) |       |       |       |       |       |       |       |       |
| DO (nm) | 0.115 | 0.304 | 0.420 | 0.447 | 0.483 | 0.491 | 0.506 | 0.524 |
| I (%)   | 88.55 | 69.85 | 58.48 | 55.74 | 52.12 | 51.36 | 49.85 | 48.13 |

### **EE** (**contrôle** =**1.01**)

| [C]<br>mg/mL | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  | 0.13  | 0.11  | 0.1   |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)      | 0.215 | 0.476 | 0.651 | 0.669 | 0.732 | 0.741 | 0.750 | 0.769 |
| I (%)        | 78.72 | 52.86 | 35.48 | 33.79 | 27.47 | 26.58 | 25.71 | 23.84 |

# EHE (contrôle =1.01)

| [C] (mg/mL) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  | 0.13  | 0.11  | 0.1   |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 0.152 | 0.397 | 0.527 | 0.585 | 0.596 | 0.645 | 0.651 | 0.686 |
| I (%)       | 84.90 | 60.65 | 47.77 | 42.04 | 40.98 | 36.15 | 35.56 | 32.02 |

# Test de FRAP

# EA

| [C] (mg/mL) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 1.235 | 0.697 | 0.561 | 0.352 | 0.267 |

# EE

| [C] (mg/mL) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 0.429 | 0.286 | 0.245 | 0.194 | 0.178 |

# **EHE**

| [C] (mg/mL) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 1.208 | 0.783 | 0.532 | 0.312 | 0.275 |

# EP

| [C] (mg/mL) | 0.8   | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 0.943 | 0.547 | 0.298 | 0.157 | 0.078 |

# VIT C

| [C] (mg/mL) | 0.4   | 0.26  | 0.2   | 0.16  | 0.13  |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 2.287 | 1.798 | 1.634 | 1.465 | 1.446 |

# Test hémolytique

# EA

| [C] (mg/mL) | 25    | 12.5  | 8.33  | 6.25  | 5     | T+    | T-    |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO (nm)     | 0.056 | 0.041 | 0.035 | 0.027 | 0.020 | 0.862 | 0.019 |
| I(%)        | 4.29  | 2.55  | 1.85  | 0.92  | 0.11  | 97.79 | 0     |

# EE

| [C]     | 25    | 12.5  | 8.33  | 6.25  | 5     | T+    | T-    |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (mg/mL) |       |       |       |       |       |       |       |
| DO (nm) | 0.066 | 0.055 | 0.042 | 0.034 | 0.023 | 0.866 | 0.015 |
| I (%)   | 5.88  | 4.61  | 3.15  | 2.19  | 1.27  | 98.26 | 0     |

# **EHE**

| [C]     | 25    | 12.5  | 8.33  | 6.25  | 5     | T+    | T-   |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| (mg/mL) |       |       |       |       |       |       |      |
| DO (nm) | 0.059 | 0.043 | 0.038 | 0.023 | 0.021 | 0.860 | 0.02 |
| I (%)   | 4.53  | 2.67  | 2.09  | 0.34  | 0.11  | 97.67 | 0    |

# EP

| [C]     | 25    | 12.5  | 8.33  | 6.25  | 5     | T+    | T-    |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (mg/mL) |       |       |       |       |       |       |       |
| DO (nm) | 0.060 | 0.052 | 0.038 | 0.033 | 0.023 | 0.912 | 0.016 |
| I (%)   | 4.82  | 3.94  | 2.41  | 1.86  | 0.76  | 98.24 | 0     |

# Acide gallique

| [C]     | 2     | 1     | 0.66  | 0.5   | 0.4   | T+    | T-    |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (mg/mL) |       |       |       |       |       |       |       |
| DO (nm) | 0.740 | 0.585 | 0.441 | 0.396 | 0.369 | 0.903 | 0.016 |
| I (%)   | 80    | 63    | 47    | 42    | 39    | 98.24 | 0     |