

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences biologiques



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER ACADEMIQUE
Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie
Spécialité: Biochimie appliquée
Présentée par: BENYAHKEM Meriem
LAMRI Khaoula

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits
phénoliques des trois espèces: *Punica granatum L.* (Grenadier);
Zea mays L. (Maïs) et *Lawsonia inermis L.* (Henné).**

Soutenu publiquement
Le: 29/05/ 2017

Devant le jury :

Présidente
Examinatrice
Encadreur

M^{me}. OULD-ELHAJ-KHLIL Aminata
M^{me}. DAOUADJI-DJELLOUL Soumia
M^{elle}. HADJADJ Soumia

Professeur UKM Ouargla
MAA UKM Ouargla
MCA UKM Ouargla

Année universitaire : 2016-2017



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nous avoir donné la forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

*Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur **M^{elle} HADJADI Soumia** Maitre assistante classe –A- au Département des sciences de la nature et de la vie. Faculté des Sciences de la nature et de la vie à l'université Kasdi Merbah – Ouargla qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.*

Nous vifs remerciements vont également à :

***M^{me} OULD-ELHAJ-KHLIL Aminata**, Maître de conférences A à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à Université KASDI MERBAH– Ouargla, d'avoir assuré la présidence du jury.*

***M^{elle} DAOUADJI-DJALOUL Soumia**, maître assistante classe –A- au Département des sciences de la nature et de la vie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie à l'Université Kasdi Merbah- Ouargla, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nos vifs remerciements vont également à tous nos enseignants et tout le personnel de l'itas, un très chaleureux merci pour tous ceux qui nous ont encouragé pendant les moments difficiles.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe à réaliser ce mémoire.



Liste des tableaux

| Numéro | Titre | Page |
|---------------|--|-------------|
| 01 | Principales classes de composés phénoliques | 09 |
| 02 | Quelques dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique | 10 |
| 03 | Différences classes des flavonoïdes | 11 |
| 04 | Différents exemples des radicaux libres | 14 |
| 05 | Principales voies de production des radicaux oxygénés | 16 |
| 06 | Sources de stress oxydant endogènes et exogènes | 18 |
| 07 | Rendement, aspect et couleur des extraits phénoliques des plantes étudiées | 40 |

Liste des figures

| Numéro | Titre | Page |
|---------------|--|-------------|
| 01 | Voie de la biosynthèse des polyphénols par de l'acide shikimique | 07 |
| 02 | Voie de la biosynthèse des polyphénols par l'acide acétique | 08 |
| 03 | Squelette de base des flavonoïdes | 10 |
| 04 | Structure des tanins hydrolysables | 12 |
| 05 | Structure des tanins condensés | 13 |
| 06 | Principales sources endogènes d'espèces réactives oxygénées | 15 |
| 07 | Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques | 26 |
| 08 | Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes | 26 |
| 09 | Carte géographique représentative de la région d'étude | 28 |
| 10 | Réaction de la réduction du réactif Folin-Ciocalteu | 34 |
| 11 | Etapes du dosage des polyphénols totaux | 34 |
| 12 | Etapes de dosage des flavonoïdes | 35 |
| 13 | Etapes de dosage des tanins condensés | 36 |
| 14 | Réaction de réduction du DPPH | 37 |
| 15 | Réaction de réduction d'ABTS | 38 |
| 16 | Teneurs en polyphénols totaux des extraits de plantes étudiées | 41 |
| 17 | Teneurs en flavonoïdes des extraits de plantes étudiées | 42 |
| 18 | Teneurs en tanins condensés des extraits de plantes étudiées | 42 |
| 19 | Activité antioxydante totale des extraits de plantes étudiées | 43 |
| 20 | Activité antiradicalaire des extraits de plantes étudiées | 44 |

Liste des photos

| Numéro | Titre | Page |
|---------------|----------------------------|-------------|
| 01 | <i>Punica granatum L.</i> | 29 |
| 02 | <i>Zea mays L.</i> | 30 |
| 03 | <i>Lawsonia inermis L.</i> | 31 |

Liste des abréviations

PEP: Phosphoénolpyruvate.

DAHP: 3-désoxy-D-arabino-hepulosonate-7-phosphate.

EPSP: 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate.

O₂••: Anion -radical superoxyde.

H₂O₂: Peroxyde d'Hydrogène.

HO•: Radical hydroxyle.

¹O₂: Oxygène singulet.

•NO: Oxyde d' azote.

ONOO•-: Peroxynitrite.

NO•: Oxyde nitrique.

ClO-: Anion hypochlorite.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil.

ABTS^{o+}: Acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AMP: Adinosine monophosphate.

pH: Potentielle d'hydrogène.

ATP: Adénosine triphosphate.

MAO: monoamine oxydase.

NADPH oxydase: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase.

SOD: superoxyde dismutase

CAT: catalase.

GPx: glutathion peroxydase.

GSH: Glutathion réduit.

GSSG: Glutathion oxydé.

GS•: radicaux thiyles.

GSH: Glutathion.

R•: Radical.

BHA: Butylhydroxyanisole.

BHT: Butylhydroxytoluène.

PG: Gallate propylée.

TBHQ: Tétrabutylhydroquinone.

ROO•: Peroxydes.

RO•: Alkoxydes.

EC 50: Concentration efficace de 50%.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Remerciements | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Liste des photos | |
| Introduction | 1 |
| Chapitre I: Synthèse bibliographique | |
| I-1-Définition de la phytothérapie..... | 05 |
| I-2-Définition des plantes médicinales..... | 05 |
| I-3-Principes actifs des plantes médicinales..... | 05 |
| I-4-Polyphénols..... | 06 |
| I-4-1-Biosynthèse des polyphénols..... | 06 |
| I-4-1-1-Voie de l'acide Shikimique..... | 06 |
| I-4-1-2-Voie de l'acide acétique..... | 08 |
| I-4-2-Classification..... | 08 |
| I-4-2-1-Acides phénoliques..... | 09 |
| I-4-2-2-Flavonoïdes..... | 10 |
| I-4-2-3-Tanins..... | 11 |
| I.5.- Définition du stress oxydant..... | 13 |
| I.6.-Définition des radicaux libres..... | 13 |
| I.6.1.- Origine des radicaux libres..... | 15 |
| I.6.1.1. - Sources endogènes..... | 15 |
| I.6.1.1.1- Chaine respiratoire mitochondriale..... | 15 |
| I.6.1.1.2. - Inflammation..... | 16 |
| I.6.1.1.3- Métaux de transition..... | 17 |
| I.6.1.1.4.- Xanthine oxydase..... | 17 |
| I.6.1.1.5.- Métabolisme de l'acide arachidonique..... | 17 |
| I.6.1.1.6.- Cytochrome P450..... | 17 |
| I.6.1.2.- Sources exogènes..... | 18 |
| I.6.2.- Défenses de l'organisme contre les radicaux libres..... | 18 |
| I.6.2.1.- Antioxydants naturels..... | 19 |
| I.6.2.1.1.- Antioxydants enzymatiques..... | 19 |
| I.6.2.1.1.1.- Superoxydes dismutases..... | 19 |
| I.6.2.1.1.2.- Glutathion peroxydases..... | 19 |
| I.6.2.1.1.3.- Catalase..... | 20 |

| | |
|---|----|
| I.6.2.1.2.- Antioxydants non enzymatiques..... | 20 |
| I.6.2.1.2.1.- Glutathion..... | 21 |
| I.6.2.1.2.2.- Coenzyme Q10 (ubiquinone) | 21 |
| I.6.2.1.2.3.- Vitamines..... | 22 |
| I.6.2.1.2.4.- Acide urique..... | 22 |
| I.6.2.1.2.5.- Caroténoïdes et polyphénols..... | 22 |
| I.6.2.1.2.6.- Oligoéléments..... | 23 |
| I.6.2.2.- Antioxydants synthétiques..... | 24 |
| I.7.- Mode d'action des polyphénols comme antioxydants..... | 24 |
| I.7.1.- Inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant..... | 25 |
| I.7.2.- Chélation des ions métalliques..... | 25 |
| I.7.3.- Piégeage des radicaux libres | 26 |

Chapitre II : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| II.1.- Matériel vegetal..... | 28 |
| II.2.- Généralités sur les plantes étudiées..... | 28 |
| II.1.1.- <i>Punica granatum</i> L..... | 28 |
| II.1.1.1.- Description botanique..... | 28 |
| II.1.1.2.- Systématique..... | 28 |
| II.1.1.3.- Utilisation traditionnelle | 29 |
| II.1.2.- <i>Zea mays</i> L..... | 30 |
| II.1.2.1.- Description botanique..... | 30 |
| II.1.2.2.- Systématique..... | 30 |
| II.1.2.3.- Utilisation traditionnelle | 30 |
| II.1.3.- <i>Lawsonia inermis</i> L..... | 31 |
| II.1.3.1.- Description botanique..... | 31 |
| II.1.3.2.-Systématique..... | 31 |
| II.1.3.3.- Utilisation traditionnelle..... | 32 |
| II.3.- Méthodologie de travail | 32 |
| II.3.1.- Technique de séchage..... | 32 |
| II.3.2.- Extraction des composés phénoliques | 32 |
| II.3.3.- Détermination des rendements d'extraction | 33 |
| II.3.4.- Analyses phytochimiques..... | 33 |
| II.3.4.1.- Dosage des composés phénoliques..... | 33 |
| II.3.4.1.1.- Dosage des polyphénols totaux | 33 |

| | |
|--|----|
| II.3.4.1.2.- Dosage des flavonoïdes | 34 |
| II.3.4.1.2.- Dosage des tanins condensés..... | 35 |
| II.3.5.1.- Activité antioxydante | 36 |
| II.3.5.1.1.- Test de phosphomolybdate..... | 36 |
| II.3.5.1.2.- Activité anti-radicalaire | 37 |
| II.3.5.1.2.1.- Test de DPPH | 37 |
| II.3.5.1.2.2.- Test d'ABTS | 38 |
| Chapitre III : Résultats et discussion | |
| III.1.- Resultats | 40 |
| III.1.1- Rendement d'extraction en composés phénoliques | 40 |
| III.1.2.- Analyse phytochimique..... | 40 |
| III.1.2.1.- Teneurs en polyphénols totaux | 41 |
| III.1.2.2.- Teneurs en flavonoïdes | 41 |
| III.1.2.3.- Teneurs en tanins condensés..... | 42 |
| III.1.3.- Résultats d'évaluation des activités antioxydants..... | 43 |
| III.1.3.1.- Activité antioxydante..... | 43 |
| III.1.3.1.1.- Activité antioxydant totale..... | 43 |
| III.1.3.1.2.- Activité antiradicalaire | 44 |
| III.2.- Discussion..... | 44 |
| Conclusion..... | 50 |
| Références bibliographiques | 53 |
| Annexes..... | I |

Introduction

Pendant longtemps, les plantes médicinales et leurs préparations ont constitué la seule source de médicaments avec les animaux et minéraux. Il a fallu attendre les progrès de la chimie au XIX^e siècle pour voir se développer l'extraction des principes responsables de l'activité et dans la seconde moitié du XIX^e siècle, l'avènement des médicaments issus de la synthèse chimiques (**ZEGHAD, 2009**). L'usage des plantes médicinales n'est pas uniquement une lointaine coutume, 90% de la population mondiale utilise peut être encore uniquement des plantes brutes et des extraits non raffinés de plantes pour se soigner (**SMALL et CATLING, 2000**).

Dans plusieurs régions d'Afrique, les plantes médicinales représentent pratiquement le seul arsenal thérapeutique à disposition des guérisseurs traditionnels qui soignent dans certains cas plus de 90% de la population. Il est donc indispensable d'étudier ces plantes et de donner une base scientifique pour leur utilisation (**SOFOWORA, 2010**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent en premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît (**HARRAR, 2012**), l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires (**ENNEB et al., 2015**).

Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses. On estime que 13000 espèces de plantes médicinales ont été utilisées pendant au moins un siècle comme remèdes traditionnels par diverses cultures dans le monde entier.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques qu'elles synthétisent, des métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence, ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction. De plus, elles synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires qu'ils sont utilisés par l'homme dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des principes actifs connue par leurs divers activités biologiques (**SMALL et CATLING, 2000**).

Les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement tant dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer) que dans l'industrie agro-alimentaire. Ces composés qui sont représentés par la famille des flavonoïdes (flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes et anthocyanidines), sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques : antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles (**SMALL et CATLING, 2000**).

En Algérie en général et à Ouargla en particulier, l'industrie pharmaceutique, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi les principes actifs sont étudiés depuis une vingtaine d'années (**OULD EL HADJ et al., 2003**).

Dans ce contexte le présent travail est consacré à l'évaluation des activités antioxydantes des extraits phénolique de trois espèces *Zea mays* L.; *Punica granatum* L. et *Lawsonia inermis* L. en vue de leur valorisation en tant qu'antioxydants.

Le document est structuré en deux parties :

La première partie consacrée aux rappels bibliographiques sur les métabolites secondaires et leurs activités antioxydantes, suivi d'une description botanique, classification systématique et l'utilisation traditionnelle des plantes sélectionnées pour la présente étude.

La deuxième partie décrit les matériels et les méthodes d'extraction et dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins condensés, l'évaluation de leur activité antioxydante et présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-1-Définition de la phytothérapie

La phytothérapie (*phyto* : plante, *thérapie* : traitement), est un traitement de diverses maladies par l'action des principes actifs de certaines plantes (**BOULLARD, 1997**).

Selon **DURAFFOURD et LAPRAZ (1998)**, la phytothérapie est une médecine naturelle au service de l'homme, entité naturelle respectueuse de sa biologie et de son écologie interne.

I-2-Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, elles sont parfois des plantes entières, le plus souvent des parties des plantes (racines, écorce sommités, fleurées, feuilles, fleurs, fruits, graines) ou des sucres retirés par incision du végétal vivant (oléorésines, gommes, latex,...) (**BOUDRAA et ROUADEH, 2003**).

Les effets bénéfiques des plantes sur la santé sont dus au fait qu'elles contiennent au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**FARNSWORTH et al., 1986**).

I-3-Principes actifs des plantes médicinales

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique (**SEBAI et BOUDALI, 2012**). Les espèces végétales produisent un large éventail de substances chimiques de structures variées, les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**HOPKINS, 2003**). A l'opposé aux métabolites primaires qui participent au métabolisme fondamental essentiel à la vie de la plante, nécessaires à leur croissance et à leur développement (**RIEDACKER et al., 1993 ; RAVEN et al., 2000**), les métabolites secondaires sont des métabolites dont la production n'est pas liée de manière significative à leur croissance (**DUPIN et al., 1992**), ils sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes (la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques...) (**BENSLAMA, 2016**). On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires: les alcaloïdes, les composés phénoliques et les composés terpéniques (**GRAVOT, 2009**).

I-4-Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille des molécules très largement répandues dans le règne végétal, on connaît actuellement plusieurs milliers de composés phénoliques, un nombre qui augmente sans cesse et qui en fait un groupe chimique particulièrement important (**MACHEIX et al., 2005**), possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre,...) (**VERCAUTEREN et al., 1998**).

I-4-1-Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromogénèse, la Voie de l'acide Shikimique et celle de l'acide acétique (**BRUNETON, 1999**).

I-4-1-1-Voie de l'acide Shikimique

La voie de l'acide shikimique localisée dans les chloroplastes et conduite à la synthèse de la tyrosine et de la phénylalanine, ces acides aminés sont transportés dans le cytosol pour la synthèse des composés phénoliques selon les réactions suivantes (**WEAVER et HERRMANN, 1997**) :

- la première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate sous l'action d'un aldolase pour former un composé en C7, le 3-désoxy-D-arabino-hepulosonate-7-phosphate (DAHP) (**GERHARD, 1993 ; BRUNETON, 1999**).

- la cyclisation du DAHP en 3-déshydroquinone par déshydroquinone synthase (**GERHARD, 1993 ; BRUNETON, 1999**).

- la déshydratation du 3-déshydroquinone est catalysée par déshydroquinone hydratase (**GERHARD, 1993**) qui en formant transitoirement une base de schiff entre un résidu lysine et le carbonyle du 3-déshydroquinone, induit une élimination d'eau stéréospécifique, *cis*. C'est après la réduction du 3-déshydro-shikimate et la phosphorylation du shikimate que se produit la condensation avec une nouvelle molécule de PEP pour former un éther d'énol, le 5-

énolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit, via une trans 1,4 –élimination inhabituelle, au chorismate.

L'acide chorismique occupe une position clé dans le métabolisme et son devenir est multiple: réarrangement péricyclique de type claisen en préphénate. C'est la voie qui conduit, via le phénylpyruvate, à la phénylalanine et à la tyrosine (Figure 01) (BRUNETON, 1999).

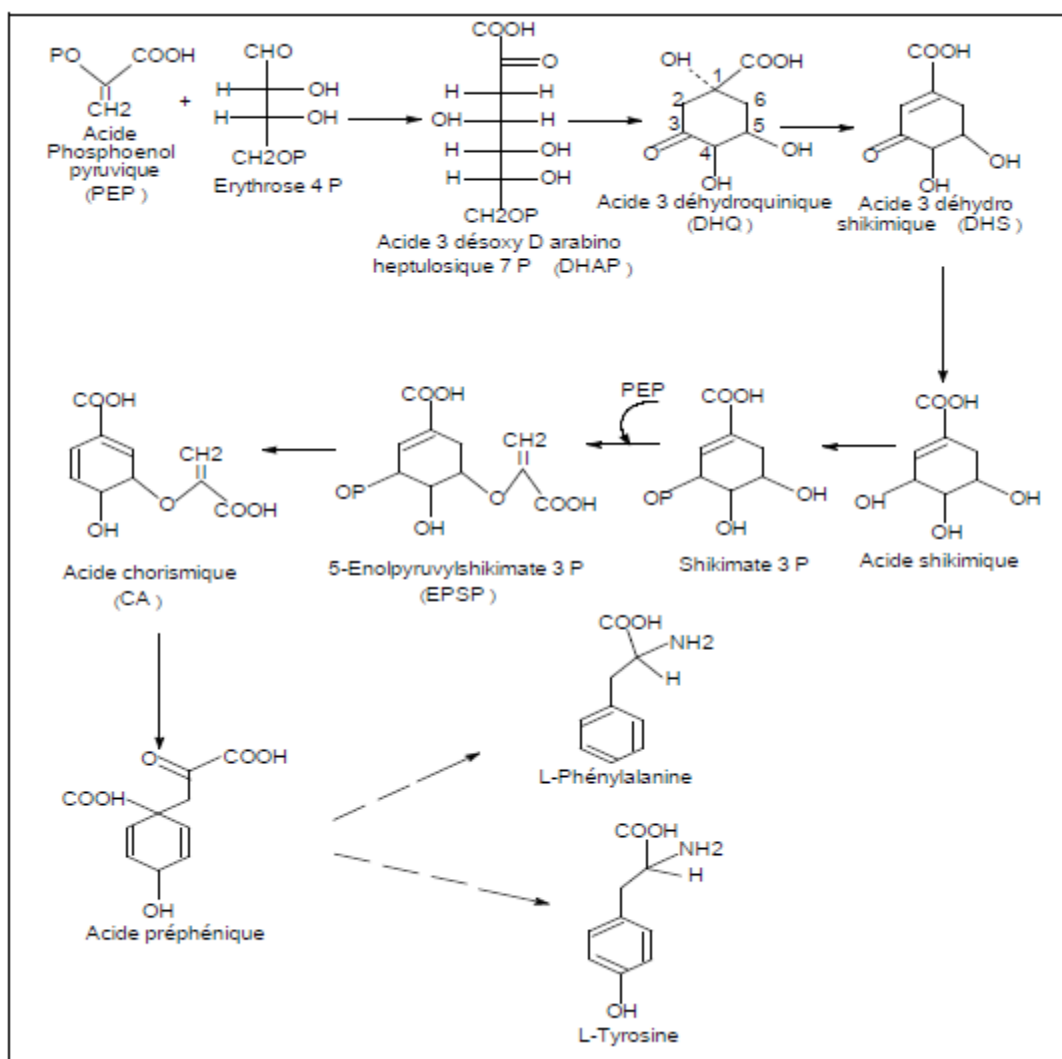


Figure 01: Voie de la biosynthèse des polyphénols par de l'acide shikimique (FLOSS, 1997).

I-4-1-2-Voie de l'acide acétique

L'acide acétique sous sa forme activée d'acetyl-s-coenzyme A, occupe une position centrale dans la biosynthèse des molécules complexes: une série de condensations de claisen entre unités dicarbonées aboutit à des chaînes polycétométhyléniques qui conduisent par cyclisation à une grande variété de composés aromatiques. Une variante caractérisée par une condensation aldolique conduit, via l'acide 3-hydroxy-3-méthylglutarique et l'acide mévalonique (Figure 02) (BRUNETON, 2009).

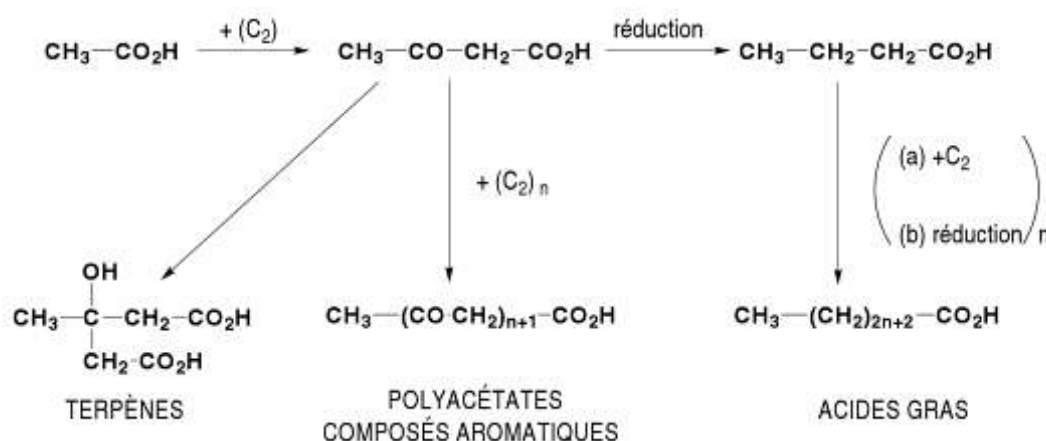

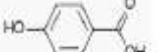
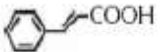
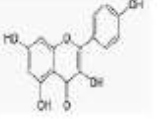
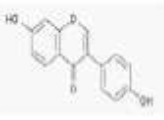
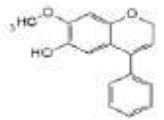
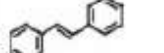
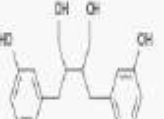


Figure 02: Voie de la biosynthèse des polyphénols par l'acide acétique (BRUNETON, 2009).

I-4-2-Classification

On distingue différentes classes des polyphénols, en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (DAAS AMIOUR, 2009).

Tableau 01: Principales classes de composés phénoliques (MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

| Squelette carboné | Classe | Exemple | Origine | structure |
|-------------------------|-------------------------|---|----------------------------------|---|
| C6 | Phénols simples | Hydroquinone | Busserole |  |
| C6-C1 | Acide Hydroxybenzoïque | β -hydroxybenzoïque | Epice, fraise |  |
| C6-C3 | Acide Hydroxycinnamique | Acide caféique Acide férulique | Pomme de terre, Pomme, citrus |  |
| C6-C3-C6 | Flavonoïdes | Quercétine, | Fruit, légumes, |  |
| | Isoflavonoïdes | Cyanidine daïdzéine | Fleurs, soja, pois |  |
| | Anthocyanes | Dalphinol | <i>Dalbergia sissoo</i> |  |
| C6-C2-C6 | Stilbènes | Resvératol, Hydrongénol Pinosylvine | Vigne |  |
| (C6-C3) ₂ | Lignanes | Pinorésinol Matairésinol | Pin |  |
| (C6-C3-C6) _n | Tanins condensés | Aesculitanins | Marronnier d'inde Vigne | |

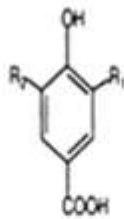
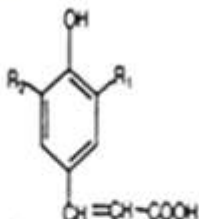
I-4-2-1-Acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques, possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (RIBEREAU-GAYON, 1968). Ces acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (DAAS AMIOUR, 2009).

- Acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.

- Acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (NKHILI, 2009).

Tableau 02: Quelques dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (DACOSTA, 2003).

| D. A. benzoïques | | | D. A. cinnamiques | | | |
|---|---------|------|---|---------|----|------|
|  | | |  | | | |
| Acide | Radical | | Acide | Radical | | |
| | R1 | R2 | | R1 | R2 | R3 |
| Hydroxybenzoïque | H | H | Cinnamique | H | H | H |
| Vanilique | H | OCH3 | Férulique | OCH3 | OH | H |
| Syngique | | | Sinapique | OCH3 | OH | OCH3 |
| Protocatéchique | OH | H | Caféique | OH | OH | H |
| | | | Coumarique | H | OH | H |

I-4-2-2-Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (TSIMOGLIANNINS et OREOPOULOU, 2006), ce sont des pigments responsable à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Figure 03) (LUGASI et al., 2003).

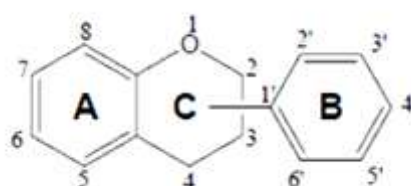


Figure 03: Squelette de base des flavonoïdes (RIBEREAU – GAYON, 1968).

La cyclisation, le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C conduisent aux diverses classes de flavonoïdes (DEHAK, 2013), dont les plus importantes sont : Anthocyanes; Flavones et flavonols; flavonones et flavononols; chalcones et aurones (Tableau 03)(COLLIN et CROUZET, 2011).

Tableau 03: Différentes classes des flavonoïdes (NARAYANA *et al.*, 2001; ERDMAN *et al.*, 2007).

| Classes | Structures chimiques | R3' | R4' | R5' | Exemples |
|-----------------|----------------------|-----|-------|-----|---------------|
| Flavones | | H | OH | H | Apigénine |
| | | OH | OH | H | Lutéoline |
| | | OH | OCH3 | H | Diosmétiline |
| Flavonols | | H | OH | H | Kaempférol |
| | | OH | OH | H | Quercétine |
| | | OH | OH | OH | Myricétine |
| Flavanols | | OH | OH | H | Catéchine |
| Flavanones | | H | OH | H | Naringénine |
| | | OH | OH | H | Eriodictyol |
| Anthocyanidines | | H | OH | H | Pelargonidine |
| | | OH | OH | H | Cyanidine |
| | | OH | OH | OH | Delphinidine |
| Isoflavones | | R5 | R7 | R4' | Exemples |
| | | OH | OH | OH | Genistéine |
| | | H | O-Glu | OH | Daidzéine |

I-4-2-3-Tanins

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines (BRUNETON, 1999), que l'on trouve dans des nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres et les fruits... etc. (MACHEIX *et al.*, 2005).

On distingue deux types, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (NKHILI, 2009).

➤ **Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables (Figure 04) sont des ester d'acide gallique ou un de ses dérivés (acide éllagique, chébulique ou vaonique) (HASLAM, 1996), par hydrolyse enzymatique ou acide, ils donnent des sucres de l'acide gallique et ces différents dérivés parmi lesquels : l'acide ellagique est le plus importants (DJAHRA, 2015).

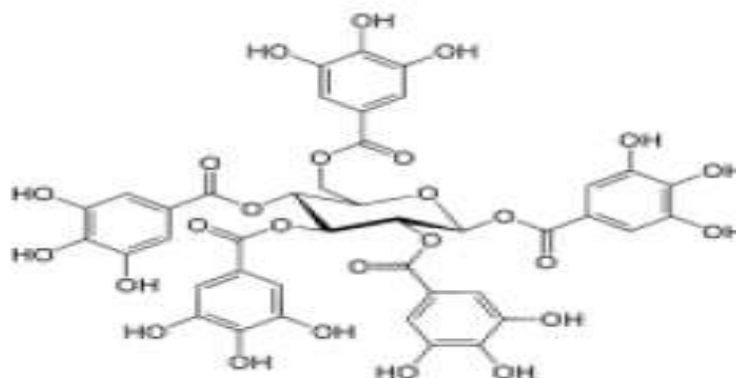


Figure 04: Structure des tanins hydrolysables (BENSLAMA, 2016).

➤ **Tanins condensés**

Les tanins condensés (Figure 05) sont désignés aussi sous le nom de "tanins catéchiques" et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (HASLAM, 1996).

Les tanins condensés ou prothocyanidols sont des polymères flavoniques, constitués d'unités de flavon-3-ols (catéchines) liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, résultante du couplage entre le C-4 électrophile d'un flavonyle issu d'un flavon-4-ol ou d'un flavon-3,4-diol (leucoanthocyanidines) (RIBEREAU-GAYON., 1968). Ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune (ROUX et CATIER, 2007), de poids moléculaire élevé (de 1000 à 30 000) et une forte affinité pour les protéines (JARRIGE et al., 1995). On les trouve dans la pellicule, les pépins et les rafles du raisin, ainsi que dans les parties périphériques des divers fruits ou légumes (DACOSTA, 2003).

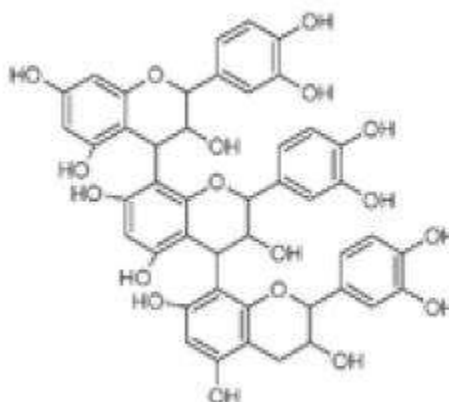


Figure 05: Structure des tanins condensés (BENSLAMA, 2016).

I.5.- Définition du stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération des radicaux libres et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (BAROUKI, 2006 ; HALENG et al., 2007 ; BEAUDEUX et DURAND, 2008 ; POWERS et al., 2010 ; JACQUOT et al., 2012), suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés, soit par défaut de synthèse (PELLETIER et al., 2004).

La formation des radicaux libres n'est pas toujours synonyme de toxicité. En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux (PELLETIER et al., 2004). Ils sont impliqués comme secondaires messagers dans l'expression et la régulation des fonctions de la prolifération et de la mort cellulaire (YAMASHITA et al., 1999).

I.6.-Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (molécule ou un atome) qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés au niveau de son orbitale externe (tableau 04) (HALLIWELLE, 1989). Ils sont instables, très réactives et qui possèdent un temps de demi-vie extrêmement court (10^{-9} - 10^{-6} Seconde) (THIEBAULD et SPRUMONT, 1998). De par leur structure particulière, ils ont tendance à attirer les électrons des autres atomes et molécules pour gagner la stabilité (DELATTRE et al., 2003).

Tableau 04: Différents exemples des radicaux libres (MOHAMMEDI, 2012).

| Nomenclature | Structure | Principales réactions |
|----------------------|--|---|
| Superoxyde | $\bullet\text{O}=\text{O}$ | Catalyseur de la réaction de Haber-Weib par recyclage de Fe^{2+} et Cu^+ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxydinitrite |
| Peroxyde d'hydrogène | $\text{HO}=\text{OH}$ | Formation du radical hydroxyle; inactivation d'enzymes; oxydation de biomolécules |
| Radical hydroxyle | $\bullet\text{OH}$ | Abstraction de d'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols |
| Ozone | $\cdot\text{O}=\text{O}^+=\text{O}$ | Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques |
| Oxygène singulet | $\bullet\text{O}=\text{O}$ | Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des acides aminés et nucléotides |
| Oxyde nitrique | $\bullet\text{N}=\text{O}$ | Formation de peroxydinitrite, réaction avec autres radicaux |
| Peroxydinitrite | $\text{O}=\text{N}=\text{O}=\text{O}\cdot$ | Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules |
| Hypochlorite | $\text{ClO}\cdot$ | Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore |
| Radical | $\text{R}\cdot$ | Abstraction d'hydrogène, formation des radicaux peroxy et autres radicaux, décomposition des lipides et autres biomolécules |
| Radical peroxy | $\text{R}=\text{O}=\text{O}\cdot$ | Abstraction d'hydrogène, formation des radicaux, décomposition des lipides et autres biomolécules |
| Hydroperoxyde | $\text{R}=\text{O}=\text{OH}$ | Oxydation des biomolécules, destruction des membranes biologiques |

I.6.1.- Origine des radicaux libres

Il existe deux sources de radicaux libres au quels nous sommes constamment exposés. Une source interne, lorsque les radicaux libres sont produits par nos cellules et une source externe, lorsqu'ils sont produits par notre environnement (TACCHINI, 2014).

I.6.1.1.- Sources endogènes

I.6.1.1.1- Chaîne respiratoire mitochondriale

Les conséquences de l'activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des espèces réactives oxygénées (HALENG *et al.*, 2007). Neuf enzymes mitochondriales sont responsables d'une production des espèces réactives oxygénées (Figure 06), parmi lesquelles : monoamine oxydase (MAO), cytochrome b5 réductase, complexe I et III, succinate déshydrogénase, glycérophosphate déshydrogénase (ANDREYEV *et al.*, 2005).

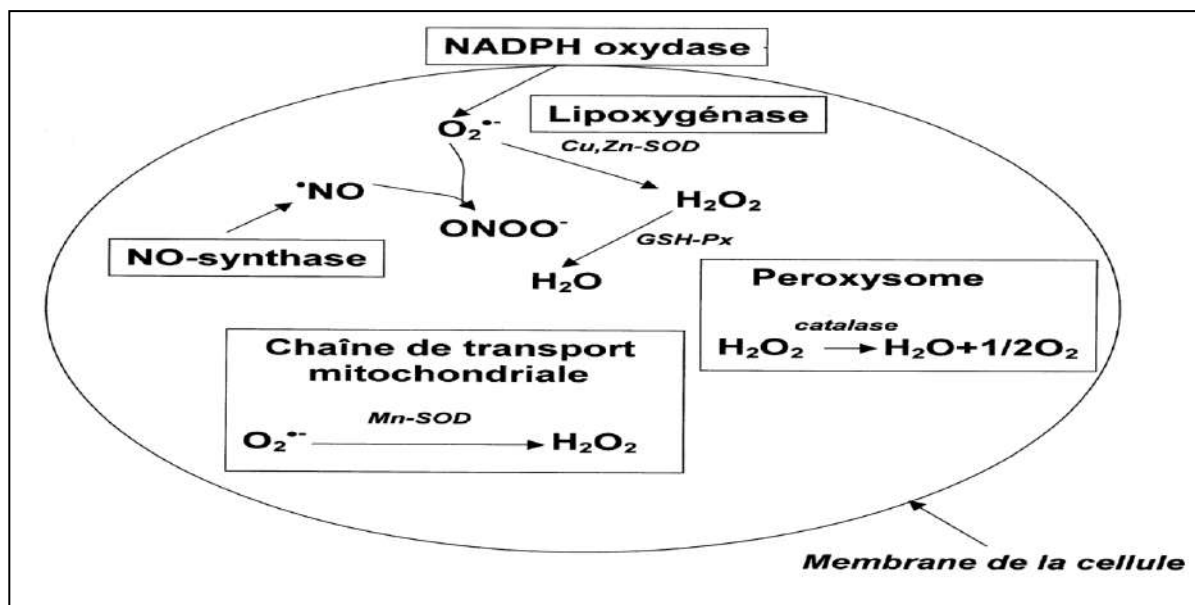


Figure 06: Principales sources endogènes d'espèces réactives oxygénées (BONNEFONT-ROUSSELOT *et al.*, 2002). (GSH-Px: glutathion peroxydase, SOD: superoxyde dismutase).

I.6.1.1.2.- Inflammation

L'inflammation est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de NADPH oxydase (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase), enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Une autre espèce radicalaire, le monoxyde d'azote, est elle aussi produite par les différentes NO synthases à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. Rappelons que la production concomitante dans un même lieu de •NO et de superoxyde s'avère très dommageable en donnant naissance au peroxynitrite (tableau 05) (FAVIER, 2003).

Tableau 05: Principales voies de production des radicaux oxygénés (PASTRE et PRIYMENKO, 2007).

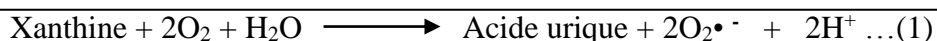
| Oxydants | Voies endogènes de production |
|---|---|
| Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) | Phosphorylation oxydative Fonctionnement des cytochromes P450 NADPH oxydase : $O_2 \xrightarrow{NADPH} O_2^{\cdot-} + NADP^+$ |
| H_2O_2 | Dismutation de $O_2^{\cdot-}$ spontanée ou avec SOD $2 O_2^{\cdot-} + 2 H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$ |
| OH^{\cdot} | Réaction de Fenton : $H_2O_2 + H^+ \xrightarrow{Fe^{3+}} H_2O + OH^{\cdot}$ Réaction de Haber-Weiss : $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \xrightarrow{Fe^{2+} / Cu^{2+}} O_2 + OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$ Radiolyse de l'eau : $H_2O \longrightarrow OH^{\cdot} + H^{\cdot}$ |
| Oxyde nitreux (NO^{\cdot}) et peroxynitrite (ONO_2^-) | Arginine \xrightarrow{NOS} NO^{\cdot} + Citrulline $NO^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \longrightarrow ONO_2^-$ |
| Oxyde chloreux (ClO^{\cdot}) | $H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{MLP} H_2O + ClO^{\cdot}$ |

I.6.1.1.3- Métaux de transition

Les métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), mais aussi le cuivre et le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H₂O₂, par une réaction appelée réaction de Fenton (tableau 5) (FAVIER, 2003).

I.6.1.1.4.- Xanthine oxydase

En situation ischémique (et hypoxique), le déficit relatif en oxygène et en ATP entraîne la formation d'hypoxanthine. La xanthine déshydrogénase, est alors oxydée en xanthine oxydase et entraîne la formation d'acide urique et de superoxyde ou de peroxydes (Equation 1). L'apport supplémentaire en oxygène (situation d'ischémie-ré-perfusion) favorise la production de superoxyde et d'H₂O₂, propageant les dommages tissulaires ; la présence d'ions métalliques, fréquemment libérés à partir de tissus hypoxiques enclins à la nécrose, donnera aussi lieu à la production d'anion hydroxyle (LACRAZ, 2009).



I.6.1.1.5.- Métabolisme de l'acide arachidonique

Durant le métabolisme de l'acide arachidonique, les lipooxygénases et les cyclooxygénases génèrent des espèces réactives oxygénées (AHSAN *et al.*, 2003 ; LEE *et al.*, 2004). De plus, dans des conditions normales, l'oxyde nitrique synthase convertit l'arginine en citruline et en monoxyde d'azote (GUZIK *et al.*, 2003).

I.6.1.1.6.- Cytochrome P450

Le cytochrome P450 peut réduire directement O₂ en O₂^{•-} en causant le stress oxydatif (GEOPTAR *et al.*, 1995). Le cytochrome P450 peut aussi prendre une voie alternative appelée "cycles redox" dans lesquels un substrat accepte un électron du cytochrome P450 et le transfère à l'oxygène générant l'anion superoxyde (tableau 06) (BECKMAN *et AMES*, 1998).

I.6.1.2.- Sources exogènes

À côté de ces productions endogènes, il existe des sources exogènes de formes radicalaires oxygénées, liées à une mauvaise hygiène de vie (tableau 06), parmi ces facteurs, on retrouve: Polluants; Radiations; Alcool; Dioxyde de carbone (CO₂) atmosphérique (RICHE et CHOS, 2008).

Tableau 06: Sources de stress oxydant endogènes et exogènes (HALENG et al., 2007).

| | | |
|--------------------------|--------------------------------|---|
| Sources exogènes | Mode de vie | Tabagisme, Faible consommation en fruits et légumes, alcool, Médicaments, Pilule contraceptive, Exposition au soleil et l'exercice intense ou mal géré |
| | Environnement | Pollution, Ozone, Amiante, Radiations et le Contacts avec des substances cancérogènes |
| Sources endogènes | Mécanismes biochimiques | Xanthine-oxydase (ischémie-reperfusion), Inflammation, Altération de la fonction endothéliale, Surcharge en fer, Oxydation de l'hémoglobine, Altérations mitochondriales, Biosynthèse des prostaglandines et l'Interventions chirurgicales (Circulation extra-corporelle, transplantations) |

I.6.2.- Défenses de l'organisme contre les radicaux libres

Pour protéger ses tissus contre les effets nocifs des radicaux libres, l'organisme possède des mécanismes de riposte anti-radicalaire polymorphe, à la fois préventive et curative (HALIWELL, 1994). Elle dispose de différents systèmes antioxydants naturels et synthétiques. Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (MATES et al., 1999 ; COMHAIR et ERZURUM, 2002 ; DROGE, 2002).

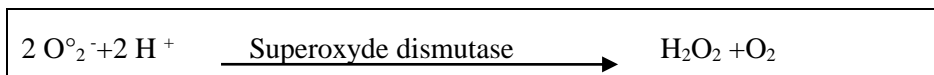
I.6.2.1.- Antioxydants naturels

I.6.2.1.1.- Antioxydants enzymatiques

Les trois enzymes antioxydantes majeures impliquées dans la défense antioxydante sont superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) (**DE MOFFARTS et al., 2005**).

I.6.2.1.1.1.- Superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la réaction suivante (**HALENG et al., 2007**):

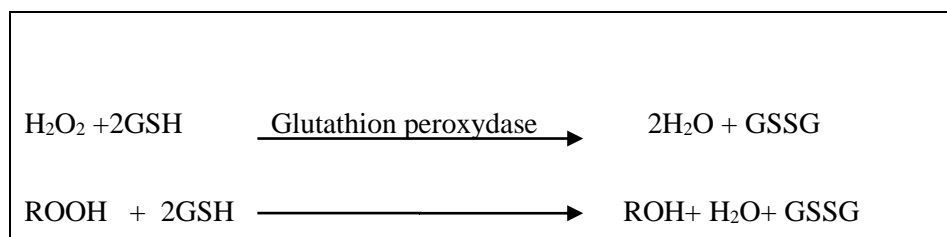


Il s'agit de trois iso-enzymes, polypeptides constitués par une chaîne d'acides aminés renfermant deux atomes métalliques: Zinc et Cuivre (Cu Zn SOD), 2 atomes de Fer (Fe SOD) ou 2 atomes de Manganèse (Mn SOD) (**CORINNE, 2010**), qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (**HALENG et al., 2007**). Ces systèmes antioxydants se situent donc aux endroits où l'oxygène est libéré. Mais l'action de la SOD doit obligatoirement être couplée avec celles des Catalase/Glutathion peroxydases pour éviter l'accumulation de peroxyde (**CORINNE, 2010**).

I.6.2.1.1.2.- Glutathion peroxydases (GPxs)

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (**HALENG et al., 2007**). La glutathion peroxydase dépendante du sélénium et dont l'action permet d'éliminer le H_2O_2 produit selon la réaction en dessous, de mode à éviter sa participation comme pro-oxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption

de la chaîne de peroxydation lipidique. L'action de glutathion peroxydase dépend aussi de la disponibilité en glutathion réduit, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (SAYRE *et al.*, 2005).

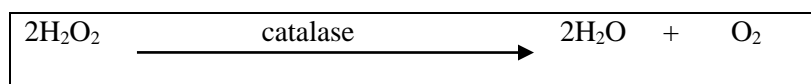


GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathion oxydé

I.6.2.1-1.3.- Catalase

La catalase (CAT) est une protéine ubiquitaire fortement concentrée dans le foie et les érythrocytes (WASSMANN *et al.*, 2004), La catalase est très efficace en présence d'un stress oxydant élevé et protège les cellules contre la production de H_2O_2 selon la réaction suivante:



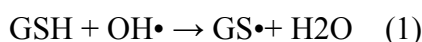
La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{+3} et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (DELATTRE *et al.*, 2005). Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases ou les thioredoxines peroxydases (FAVIER, 2003).

I.6.2.1.2.- Antioxydants non enzymatiques

La lutte contre les Radicaux libres fait appel à des systèmes enzymatiques et non enzymatiques piègeurs des Radicaux libres comme les vitamines C, E, D, les caroténoïdes et les polyphénols (CORINNE, 2010), ainsi que certains acides aminés doués de propriété antioxydante comme la cystéine (FONTAINE *et al.*, 2002).

I.6.2.1.2.1.- Glutathion

Le glutathion est un tripeptide dont la concentration intracellulaire est importante puisqu'elle est de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-3} mol. L⁻¹. La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire réducteur (donneur d'électron ou d'atome H), qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles, il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Toutefois, le rôle protecteur de glutathion semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R• (réaction (1)). En effet dans ce cas, un phénomène de « réparation » des radicaux R• en RH se produit (2), par opposition à l'oxydation possible des radicaux R• par O₂, donnant naissance à des radicaux peroxyles RO₂• (**GARDES-ALBERT et al., 2003**). Les autres propriétés antioxydantes du glutathion sont nombreuses : cofacteur de la glutathion peroxydase, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (**HALENG et al., 2007**).



GS•: radicaux thiyles, GSH: Glutathion, R•: Radical

I.6.2.1.2.2.- Coenzyme Q10 (ubiquinone)

Le coenzyme Q10, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est une molécule importante dans la production d'énergie par la mitochondrie et possède en plus des propriétés antioxydantes particulièrement complexes, le coenzyme Q10 est présent dans les membranes biologiques au même titre que l' α -tocophérol ou vitamine E. Le coenzyme Q10 agit en synergie très étroite avec la vitamine E dans la protection des membranes cellulaires contre le stress oxydant. Ces deux propriétés étroitement liées font que le coenzyme Q10 est considéré comme un agent thérapeutique intéressant dans diverses pathologies caractérisées par des altérations mitochondriales (mitochondrial diseases) et/ou par la présence d'un stress oxydant (athérosclérose) (**PINCEMAIL et DEFRAIGNE, 2003**).

I.6.2.1.2.3.- Vitamines

- **Vitamine E**

Le terme vitamine E désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocots par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale) (**HALENG et al., 2007**). C'est un antioxydant liposoluble, en raison de sa longue chaîne aliphatique comportant 16 atomes de carbone, Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydes lipidiques $RO_2\bullet$ qui propagent les chaînes de peroxydation (**GARDES-ALBERT et al., 2003**). La vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes (**FAVIER, 2003**).

- **Vitamine C**

La vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles $OH\bullet$, mais aussi avec les radicaux superoxydes $O\bullet^{2-}$ et leur forme protonée HO_2 (**GARDES-ALBERT et al., 2003**). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (**HALENG et al., 2007**).

I.6.2.1.2.4.- Acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ($OH\bullet$, $ROO\bullet$, $NOO\bullet$...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate in vivo peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les espèces réactives oxygénées, l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (**HALENG et al., 2007**).

I.6.2.1.2.5.- Caroténoïdes et polyphénols

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de vastes familles de composés (plusieurs centaines) parmi lesquels se trouvent le β carotène (famille des caroténoïdes),

l'acide caféique et la quercétine (famille des polyphénols). Les caroténoïdes et polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyyles $\text{OH}\cdot$ et peroxydes $\text{RO}_2\cdot$. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace semble-t-il que ne le fait l' α -tocophérol. En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteur d'oxygène singulet ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (**GARDES-ALBERT, 2003**). Les caroténoïdes (rétinol, β -carotène) semblent agir en stimulant la différenciation cellulaire et en augmentant l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules néoplasiques (**PINCEMAIL et al., 1999**).

I.6.2.1.2.6.- Oligoéléments

- **Sélénium**

Le sélénium n'est pas un anti-oxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx (**HALENG et al., 2007**). Des recherches sur cultures de cellules cancéreuses ont montré que le sélénium (un cofacteur de la glutathion peroxydase) diminue le nombre de mitoses de ces cellules (**PINCEMAIL et al., 1999**). De nombreuses études confirment le rôle protecteur du sélénium dans certains cancers (notamment gastro-intestinaux et pulmonaires) où l'agression du stress oxydatif est importante (**CORINNE, 2010**).

- **Cuivre**

Le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'espèces réactives oxygénées (réactions de Fenton) et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (**HALENG et al., 2007**).

- **Zinc**

Le zinc joue un rôle de cofacteur pour de nombreuses enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides. Le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'espèces réactives oxygénées induites par des métaux de

transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu/ Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu (**HALENG et al., 2007**).

- **Protéines plasmatiques**

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (**HALENG et al., 2007**).

La transferrine possède une capacité de fixation importante en fer puisqu'elle est saturée à environ 30% avec ce métal de transition de sorte qu'il n'est pas possible de trouver du fer libre (à l'état actif) dans le sang de sujets en bonne santé. A ce titre, la transferrine est considérée comme étant un antioxydant important. En situations pathologiques, le fer peut toutefois être libéré de ses protéines de transport (ferritine, lactoferrine) sous l'action des espèces oxygénées activées et se retrouver dans le sang sous une forme libre capable d'initier des réactions radicalaires (**PINCEMAIL et al., 1999**).

I.6.2.2.- Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) (**MARTINI, 2011**), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**LISU et al., 2003**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (**YU et al., 2000**). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra-hépatiques (**BARLOW, 1990**). Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat (**ITO et al., 1985**).

I.7.- Mode d'action des polyphénols comme antioxydants

Les polyphénols peuvent agir selon divers mécanismes comme antioxydants (**HALLIWELL, 1994**):

- Inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant

- Chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées
- Piégeage direct des espèces réactives oxygénées.

I.7.1.- Inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant

Les polyphénols sont perçus comme des molécules « signal » qui pourraient stimuler les défenses antioxydantes d'une part via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes et d'autre part via la modulation des voies de signalisation intracellulaires contrôlant l'expression des enzymes anti-oxydantes. Par exemple, les flavonoles quercétine, kaempferol et galangine, ainsi que le flavone apigénine sont des inhibiteurs des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans la production des radicaux libres (**SANDHAR et al., 2011**).

I.7.2.- Chélation des ions métalliques

Les ions fer et cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant. Ainsi, les ions de fer sont nécessaires pour la biosynthèse de la catalase et ceux de cuivre pour la formation du superoxyde dismutase. Mais l'autoxydation en présence des ions Fe^{+2} et Cu^{+2} comme catalyseurs favorisent la production du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène. Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques (**HIDER et al., 2001**). Les études menées par **VAN ACKER et al., (1996)**, sur la chélation des ions par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques, (i) les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B, (ii) les groupes 3- hydroxy et 4-oxo du cycle C, (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxy de cycle A (Figure 07).

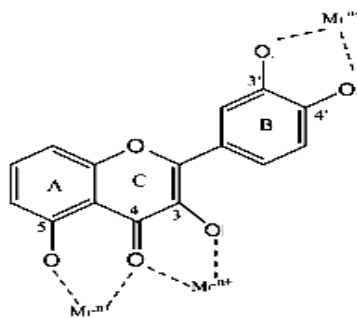
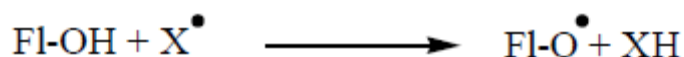


Figure 07: Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Mn^{2+}) (NKHILI, 2009).

I.7.3.- Piégeage des radicaux libres

Les polyphénols sont considérés comme des antioxydants puissants, capables de piéger les radicaux libres et ainsi réduire le stress oxydant au niveau de l'organisme (Figure 08) (MORAND et MILENKOVIC, 2014). Grâce à leur faible potentiel redox, les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes, sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO^{\cdot}), alkoxydes (RO^{\cdot}) et hydroxyle par transfert d'hydrogène.



Où X^{\cdot} représente l'un des espèces réactives oxygénées mentionnés ci-dessus (NKHILI, 2009).

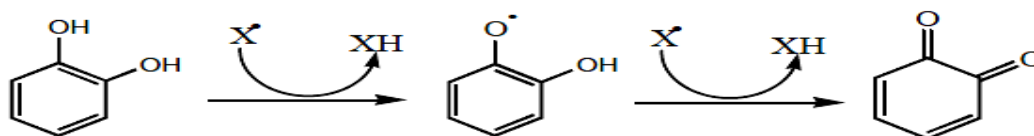


Figure 08: Piégeage des espèces réactive oxygénées par les flavonoïdes

(NKHILI, 2009).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1.- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte les styles de *Z. mays*, les feuilles de *L. inermis* et les écorces de *P. granatum* ont été récoltées de daïra de Touggourt à 160 Km de la Willaya de Ouargla (Figure 09). Concernant la période d'échantillonnage, le printemps Mars-Avril (2016) est retenu car c'est la saison où le développement et la diversité floristique sont au maximum.

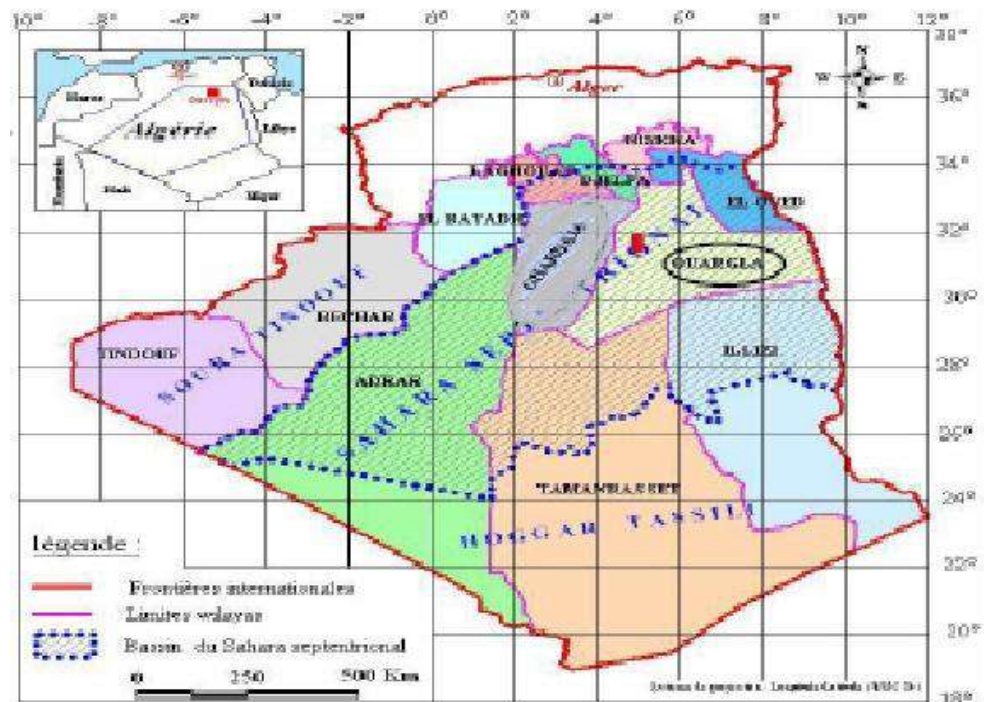


Figure 09 : Carte géographique représentative de la région d'étude (BELLAOUEUR, 2008).

II.2.- Généralités sur les plantes étudiées

II.1.1.- *Punica granatum L*

II.1.1.1.- Description botanique

Le Grenadier est un arbuste abondant en Afrique du nord (BRUNETON, 1999), qui atteint souvent une hauteur de 4 m, il est légèrement épineux. Les branches sont angulaires, le feuillage est caduque. Les feuilles épineuses glabres sont opposées, de forme ovale à

oblongue et de 2 à 8 cm de long. Le pétiole est court (ROTH et LINDORF, 2013). Ses fleurs à 5-7 pétales et son fruit une baie cortiquée arrondie surmontée des dents du calice le rendent facilement identifiable (BRUNETON, 1999), Les fruits sphériques sont couronnés par les sépales persistants et ont la taille d'une orange (6-8 cm de diamètre) (ROTH et LINDORF, 2013), La pulpe du fruit est la matière première du véritable sirop de grenadine (BRUNETON, 1999).

II.1.1.2.- Systématique

Règne : *Plantae*

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Sous-classe: *Rosidae*

Ordere: *Myrtales*

Famille: *Lythraceae*

Genre: *Punica*

Espèce : *Punica granatum L.* (grenadier)
(CLAY *et al.*, 1987 ; CHENGAIHAH *et al.*, 2012).



Photo 1: *Punica granatum L.* (HMID, 2014).

II.1.1.3.- Utilisation traditionnelle

L'arbuste a de nombreuses utilisations médicinales et cosmétiques: les fleurs fournissent un colorant pour les cheveux, les feuilles et les fleurs donnent des potions pour les gargarismes, l'écorce de fruits astringent et racines fraîches ont des propriétés toniques qui aident dans le traitement des troubles digestifs et intestinaux sévères. Le fruit savoureux produit de grandes quantités de jus de refroidissement (CLAY *et al.*, 1987).

Les écorce de racines, recommandées 15 siècles avant J.C. pour le traitement des vers, ont été employées comme anthelminthique (surtout taenicide) jusqu'à la première moitié du XX^e siècle (BRUNETON, 1999).

II.1.2.- *Zea mays* L.

II.1.2.1.- Description botanique

Zea mays est une plante herbacée annuelle dont la tige, non ramifiée, peut atteindre 2 m de hauteur. Les feuilles sont très longues, larges et nervures parallèles. Les fleurs mâles sont groupées en épis à l'extrémité des tiges, ces épis étant eux-mêmes assemblés en panicules. Les fleurs femelles apparaissent à l'aisselle des feuilles. Elles sont groupées en très gros épis cylindriques enveloppés dans de grandes bractées (écailles situées à la base d'une inflorescence ou d'une fleur). Ces fleurs femelles sont, en outre, caractérisées par des styles filiformes jaunâtres, très longs (20 cm), formant une touffe dépassant les bractées et souvent appelée « barbe de Maïs », ces styles, se terminant par les stigmates. Les fruits sont des caryopses (GIRRE, 2001). Les grains sont blancs, jaunes ou rougeâtres (TRAMIL, 1999).

II.1.2.2.- Systématique

Règne : *Plantae*

Ordre : *Poales*

Famille : *Poaceae*

Genre : *Zea*

Espèce : *Zea mays* L. (Maïs) (WILSON et MORRISON, 2000 ; ANDRE, 2005).



Photo 02: *Zea mays* L. (STALLER, 2010).

II.1.2.3.- Utilisation traditionnelle

Dans les pays développés, le maïs est surtout destiné à l'alimentation animale, que ce soit sous forme de grain ou bien d'ensilage de la plante entière. C'est également une plante industrielle utilisée dans les industries agroalimentaires (brasserie, confiserie, entremets, plat cuisinés, huiles, corn flakes, biscuits apéritif...), ainsi que dans les industries non alimentaires (papeterie, textile, chimie, pharmacie...). (AGRI, 1986). Il est utilisé contre l'œdème dus à un

insuffisance cardiaque ou à un cirrhose et l'inflammation et contre les maux de reins, il s'agit simplement d'une thérapeutique symptomatique complémentaire (TRAMIL, 1999). Au pérou, les styles de Maïs sont utilisées comme stupéfiant, certains indiens inhalent les vapeurs du l'alcaloïde. Les effets en sont une excitation psychique pouvant aller jusqu'au délire les styles de maïs frais sont diurétique (SCHAUENBERG et PARIS, 2013).

II.1.3.- *Lawsonia inermis* L.

II.1.3.1.- Description botanique

Arbuste de 2 à 4 m de hauteur avec des branches grêles très fines aux extrémités et devenant souvent épineuses. Les feuilles à pétioles courts sont opposées, entières, glabres, ovales-aigues terminées par une petite pointe (acuminées), à limbe mucroné, révoluté sur les bords (POUSSET, 2004), de 5 cm de long avec des tiges courtes (OAKMAN, 1995). Les fleurs de couleur blanc-crème, groupées en cymes terminales, sont parfumées. Le fruit est une capsule globuleuse renfermant de nombreuses graines pyramidales. La culture est très répandue dans les régions chaudes subtropicales (POUSSET, 2004).

II.1.3.2.-Systématique.

Règne : *Plantae*

Sous-domaine: *Tracheobionta*

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordre: *Myrtales*

Famille: *Lythraceae*

Genre: *Lawsonia*

Espèce : *Lawsonia inermis* L. (Henné) (CHENGAIHAH et al., 2012 ; WIART, 2012).



Photo 03: *Lawsonia inermis* L. (CHENGAIHAH et al., 2012).

II.1.3.3.- Utilisation traditionnelle

Les feuilles du henné sont utilisées comme colorant et cosmétique pour la teinture des cheveux, la coloration des ongles, et pour la décoration traditionnelle de la plante des pieds et de la paume des mains. On les emploie aussi pour le traitement des maladies de la peau, des brûlures, des plaies et comme anti- inflammatoire, antidiarrhétique, antiépileptique, et abortif. Autrefois, l'écorce était réputée contre la jaunisse (POUSSET, 2004).

II.3.- Méthodologie de travail**II.3.1.- Technique de séchage**

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation des échantillons, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours a été réalisé. Elles sont, ensuite, broyées par un broyeur électrique de type SM100 Comfort.

Après broyage, la poudre des plantes a été conservée dans des flacons hermétique en verre afin de garder leur couleur, goût et principalement leur effet thérapeutique, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur analyse.

II.3.2.- Extraction des composés phénoliques

La préparation d'un extrait de plante présente un nombre variable des étapes selon l'objectif suivi. Dans le présent travail, nous avons ciblé les métabolites secondaires (essentiellement les composés phénoliques). Des extraits hydroéthanoliques sont préparés par macération de 20 g de poudre végétale dans 100 ml d'éthanol à 70% pendant 24 heures. Les extraits hydroéthanoliques sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman numéro 1.

Les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et troisième fois d'extraction avec le même volume d'un même mélange hydroalcoolique. Les trois filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota-vapeur à 40°C. Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à leurs utilisations.

II.3.3.- Détermination des rendements d'extraction

Le rendement d'extraction a été estimé par rapport au poids de l'extrait brut et de la masse de matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$RE(\%) = \frac{PBE - PBV}{PP} \times 100$$

RE : rendement d'extraction en pourcentage.

PBE : poids des boites pleins après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.

PBV : poids des boites vides en gramme.

PP : poids des plantes sèche en gramme.

II.3.4.- Analyses phytochimiques

II.3.4.1.- Dosage des composés phénoliques

II.3.4.1.1.- Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode décrite par **SINGLETON et ROSSI (1965)** avec le réactif Folin-Ciocalteu. En milieu basique, l'ensemble des composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PM_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Figure 10). La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon, les étapes de dosage des polyphénols totaux représentent dans (Figure 11).

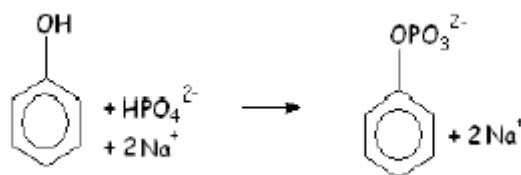


Figure 10 : Réaction de la réduction du réactif Folin-Ciocalteu (SINGLETON et ROSSI, 1965).

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique (Annexe 01).

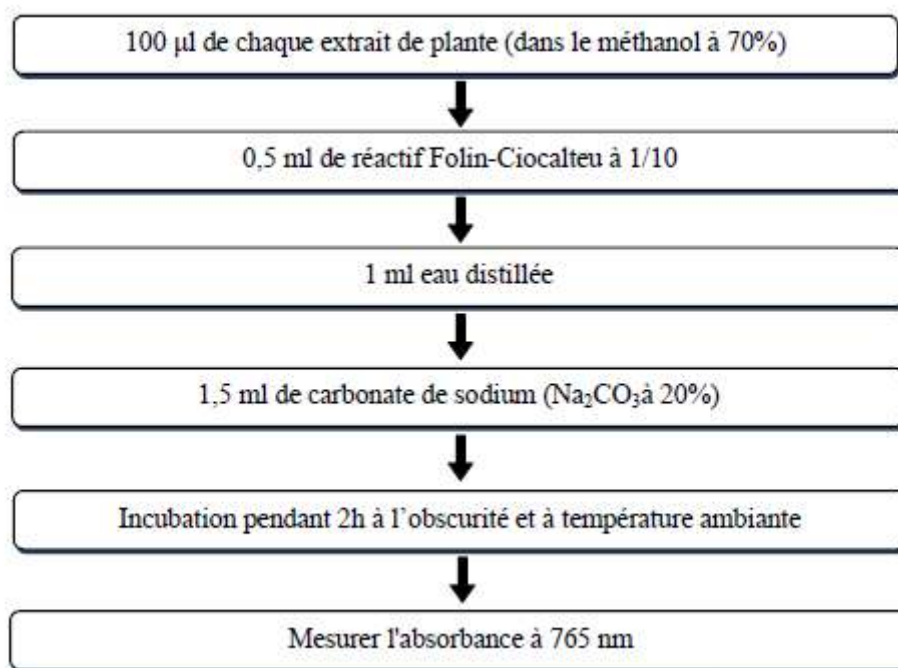


Figure 11: Etapes du dosage des polyphénols totaux (SINGLETON et ROSSI, 1965).

II.3.4.1.2.- Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits a été déterminée selon une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium AlCl_3 décrite par QUETTIER-DELEU *et al.* (2000) (Figure 12). En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont

capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre, grâce à la présence des groupements orthodihydroxylés sur les noyaux A ou B et les groupements hydroxyles libres en position C3 et C5 ou le groupement cétonique en position C4, Ce complexe peut être dosé par spectrophotométrie UV-visible à 430 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de rutine par gramme matière sèche (mg ER/g de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage de la rutine (**Annexe 02**).

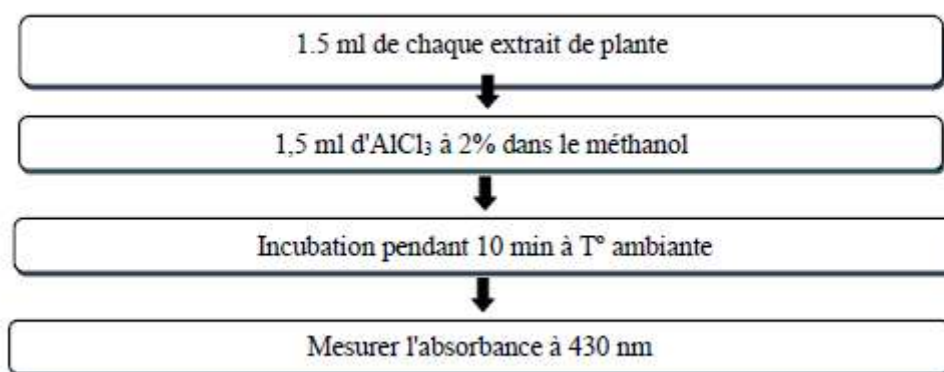


Figure 12: Etapes de dosage des flavonoïdes (**QUETTIER-DELEU et al., 2000**).

II.3.4.1.3.- Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés totaux des différents extraits a été déterminée selon une méthode colorimétrique à la vanilline en milieu acide décrite par **JULKUMEN-TITTO., 1985** (Figure 13). En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme matière sèche (mg EC/g de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage de la catéchine (**Annexe 03**).

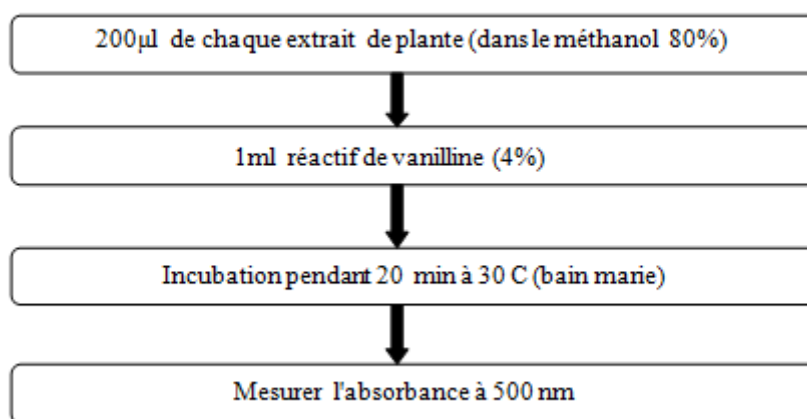


Figure 13: Etapes de dosage des tanins condensés (JULKUMEN-TITTO., 1985).

II.3.5.1.- Activité antioxydante

Trois méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits, à savoir la réduction de phosphomolybdate, le piégeage des radicaux DPPH et ABTS.

II.3.5.1.1.- Test de phosphomolybdate

L'activité antioxydante totale des différents extraits, est évaluée par la méthode de réduction de phosphomolybdate (Mo^{+6}) au (Mo^{+5}) par les antioxydants selon la méthode de **PRIETO et al. (1999)**. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate /Mo) à un pH acide.

400 μl d'extrait sont mises dans un tube à essai et mélangées avec 4 ml du réactif composé de H_2SO_4 (0,6M), de Na_3PO_4 (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont ensuite agités et placés au bain marie pendant 60 minutes à 95°C . L'absorbance de la solution préparée est mesurée à 695 nm contre un blanc préparé de la même manière (sans extrait).

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA /g de MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (**Annexe 04**).

II.3.5.1.2- Activité anti-radicalaire

II.3.5.1.2.1.- Test de DPPH

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH• (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) comme un radical stable de couleur violette absorbe à 515 nm. Cette mesure a été réalisée selon la méthode décrite par **BRAND-WILLIAMS et al. (1995)**. La réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPHH (Figure 14). Cette réduction est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm en présence d'un antioxydant.

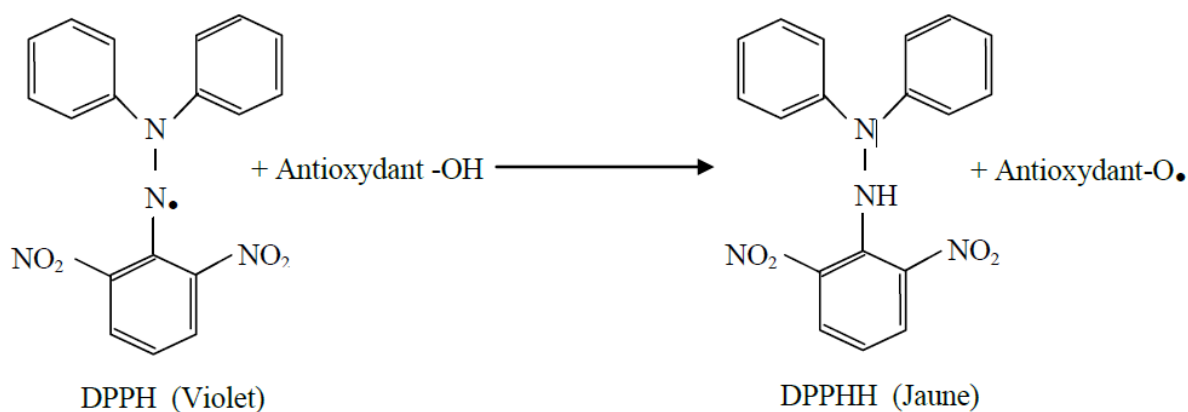


Figure 14: Réaction de réduction du DPPH (TALBI et al., 2015)

0,1 ml d'extrait de différentes concentrations sont additionnés à 2,9 ml d'une solution de DPPH (60 μ M) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 515 nm contre le méthanol.

Cette activité est exprimée en EC50, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité du DPPH• dans le milieu réactionnel. Les pourcentages d'inhibition sont déterminés selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((B - A) / B) \times 100$$

B : absorbance de 0,1 ml de méthanol + 2,9 ml d'une solution de DPPH.

A : absorbance de l'échantillon + DPPH•.

La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son EC50 est petite.

II.3.5.1.2.2.- Test d'ABTS

Le radical cation $ABTS^{\circ+}$ (l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est stable sous sa forme libre. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance (Figure 15). Cette diminution dépend de la quantité des antioxydants présents dans le milieu (MANSOUR *et al.*, 2011).

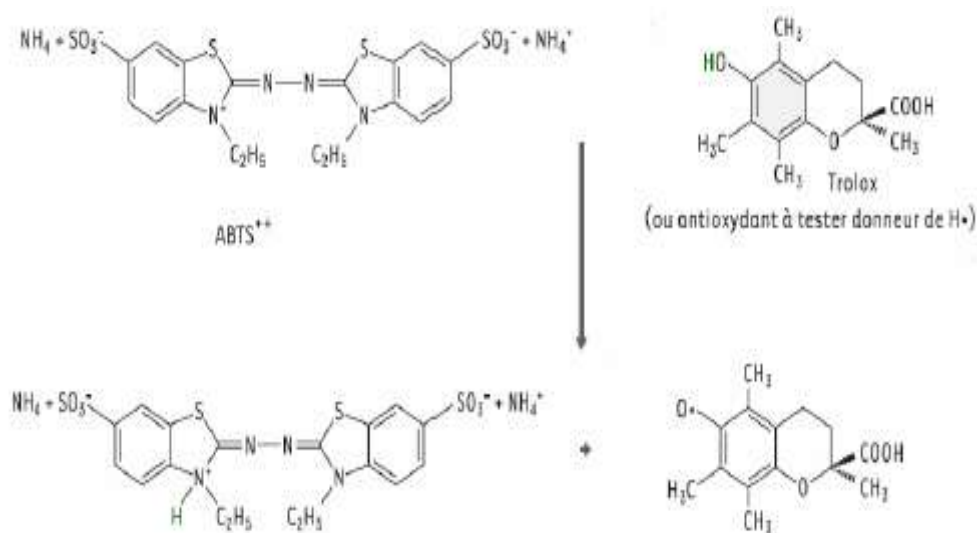


Figure 15: Réaction de réduction d'ABTS (MARC *et al.*, 2004).

Le cation $ABTS^{\circ+}$ est généré en mélangeant 8 mM de sel ABTS avec 3 mM de persulfate de potassium dans 25 ml d'eau distillée suivi d'une incubation 16h à température ambiante. La solution radicalaire $ABTS^{\circ+}$ est diluée pour obtenir une absorbance de 0.7 ± 0.2 à 734 nm.

0.1ml d'extrait de différentes concentrations sont ajoutés à 2,9 ml de la solution radicalaire $ABTS^{\circ+}$. Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 10 min. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 734 nm contre le méthanol.

La capacité antiradicalaire EC50 a été déterminée en utilisant la même équation précédemment utilisées pour la méthode du DPPH.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1.- Résultats

Les dosages effectués sur les extraits de plantes *L. inermis*, *Z. mays* et *P. granatum* ont pour objectif la détermination des contenus en métabolites secondaires et l'évaluation des activités antioxydantes des extraits hydroéthanoliques issus de ces espèces.

III.1.1.- Rendement d'extraction en composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques s'est faite par macération à l'éthanol à 70%. Les résultats sont consignés dans le tableau 07 :

Tableau 07: Rendement, aspect et couleur des extraits phénoliques sec des plantes étudiées.

| Plantes | Aspect | Couleur | Rendement (%) |
|--------------------|--------|--------------|---------------|
| <i>L. inermis</i> | Pâteux | Marron foncé | 27.18 |
| <i>Z. mays</i> | Pâteux | Marron | 37.39 |
| <i>P. granatum</i> | Pâteux | Marron foncé | 39.72 |

Les extraits obtenus présentent un aspect pâteux de couleur marron à marron foncé. Le rendement d'extraction a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les données obtenues montrent que les rendements en extraits bruts sont variables selon les espèces. Les extraits hydroéthanoliques de *P. granatum* (39.72 %) et celui de *Z. mays* (37.39%) présentent les rendements les plus élevés alors que celui de *L. inermis* a enregistré le pourcentage le moins important (27.18%).

III.1.2.- Analyse phytochimique

Afin de caractériser quantitativement les extraits préparés à partir des plantes étudiées, un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été effectué.

III.1.2.1.- Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques issus des espèces sélectionnées sont illustrées dans la figure 16.

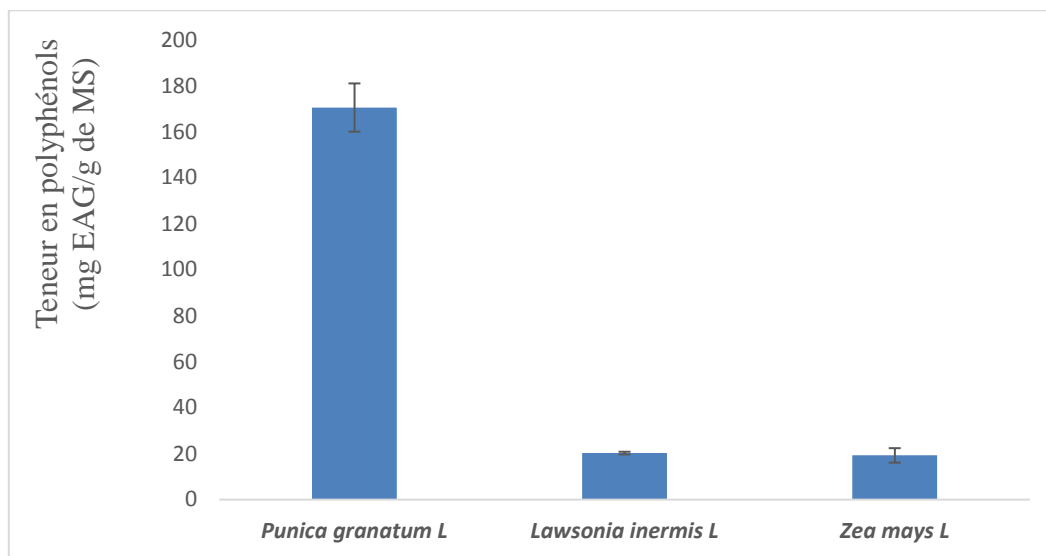


Figure 16: Teneurs en polyphénols totaux des extraits des plantes étudiées.

Les teneurs en ces composés varient entre 170 ± 10 et 19 ± 3 mg EAG/g de MS. Des taux élevés sont notés dans les extraits hydroéthanolique de *P. granatum* avec 170 ± 10 mg EAG/g de MS, suivent de ceux mentionnés chez *L. inermis* et *Z. mays* avec 20 ± 1 et 19 ± 3 mg EAG/g de MS respectivement.

III.1.2.2.- Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanoliques issus des espèces sélectionnées sont présentées dans les histogrammes de la figure 17.

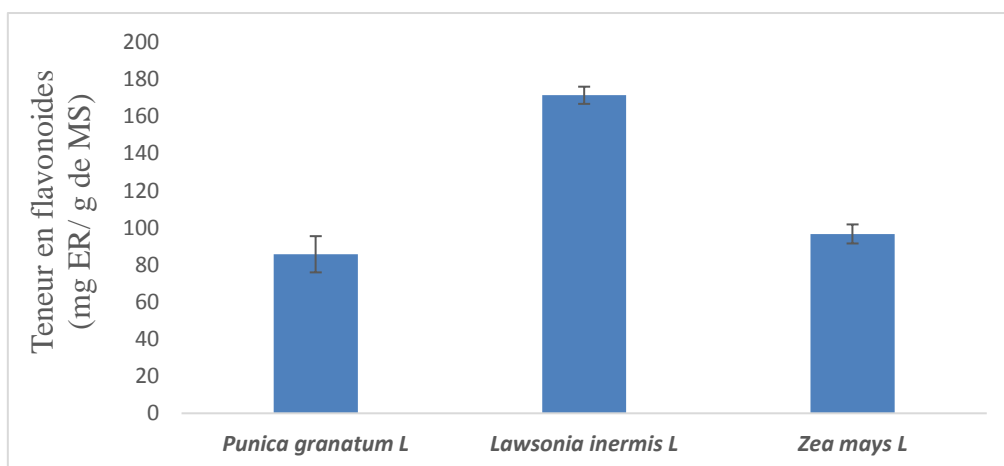


Figure 17: Teneurs en flavonoïdes des extraits des plantes étudiées.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits des plantes étudiées varient entre 171 ± 5 et 86 ± 10 mg ER/g de MS. Des teneurs maximales sont enregistrées dans les extraits hydroéthanolique de *L. inermis* avec 171 ± 5 mg ER/g de MS, ensuite vient ceux de *Z. mays* avec des teneurs égales à 97 ± 5 mg ER/g de MS. Celles mentionnées chez *P. granatum* sont les moins intéressantes, avec des quantités estimées à 86 ± 10 mg ER /g de MS.

III.1.2.3.- Teneurs en tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques issus des espèces sélectionnées sont présentées dans les histogrammes de la figure 18.

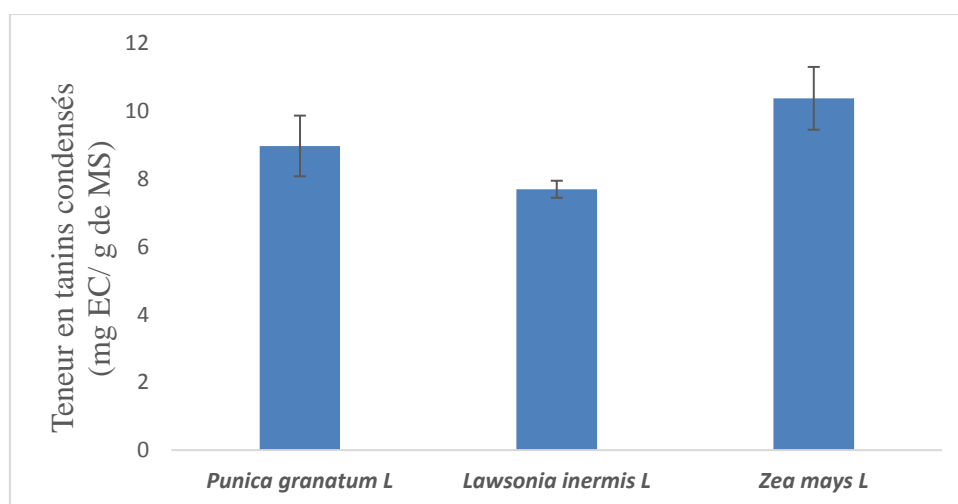


Figure 18: Teneurs en tanins condensés des extraits des plantes étudiées.

Les teneurs en tanins condensés des extraits des plantes étudiées varient entre 10 ± 1 et 8 ± 0 mg EC/g de MS. Les teneurs enregistrées sont presque similaires pour les extraits de toutes les espèces avec 10 ± 1 , 9 ± 1 et 8 ± 0 mg EC/g de MS respectivement chez *Z. mays*, *P. granatum* et *L. inermis*.

III.1.3- Résultats d'évaluation des activités antioxydantes

Dans la présente étude, les activités antioxydantes des extraits des plantes étudiées sont estimées afin de valoriser nos plantes.

III. 1. 3.1.- Activité antioxydante

III.1.3.1.1.- Activité antioxydante totale

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante totale des extraits de plantes étudiées sont illustrés dans la figure 19.

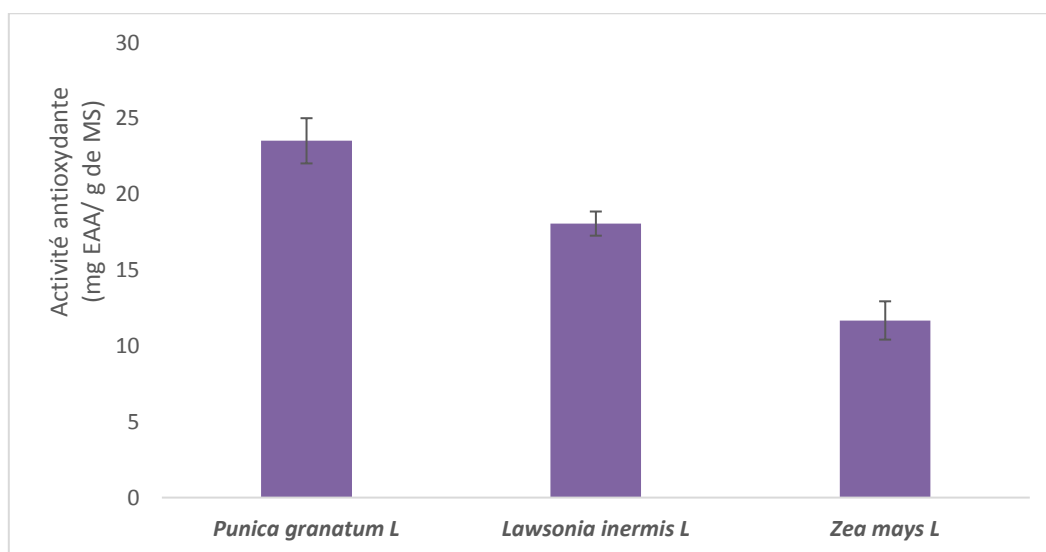


Figure 19: Activité antioxydante totale des extraits des plantes étudiées.

Les valeurs obtenues se situent entre 24 ± 1 et 12 ± 1 mg EAA /g de MS, les résultats de l'activité antioxydante totale ont la même tendance que les composés phénoliques. *P. granatum*, avec des taux maximums en composés phénoliques ont des pouvoirs réducteurs les plus importants 24 ± 1 mg EAA/g de MS, suivie de ceux de *L. inermis* 18 ± 1 mg EAA /g de MS et de ceux de *Z. mays* 12 ± 1 mg EAA /g de MS.

III.1.3.1.2.- Activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire des extraits des plantes investiguées *vis-à-vis* des radicaux DPPH et ABTS a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ces radicaux. Les résultats obtenus exprimés en termes de concentration inhibitrice (normalement efficace) de 50% (EC 50), ils sont présentés dans la figure 20.

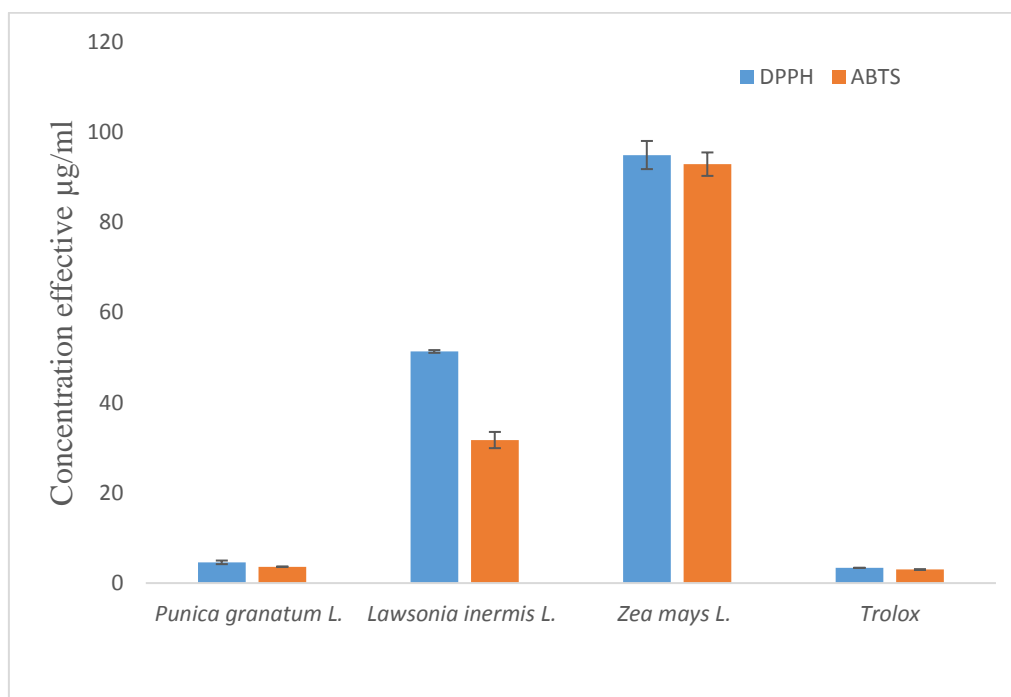


Figure 20: Activité antiradicalaire des extraits des plantes étudiées.

Les extraits de *P. granatum* montrent une capacité très puissante à piéger les radicaux DPPH et ABTS avec une concentration EC50 moyenne de l'ordre de 4.5 µg/ml. Suivis par ceux de *L. inermis* avec une concentration EC50 évaluée de 51 µg/ml contre DPPH et 32 µg/ml contre ABTS. Les extraits de *Z. mays* restent les moins actifs avec des EC50 de l'ordre de 95 ± 2 contre DPPH et de 93 ± 3 et contre ABTS. Il est important de noter que les EC50 de toutes les espèces sont supérieures aux celles de témoin positif le Trolox avec EC50 moyenne de 3.2 ± 0 µg/ml.

III.2.- Discussion

Au vu des résultats obtenus, il apparaît que les rendements d'extractions varient considérablement entre les espèces végétales. Les meilleurs rendements d'extraction en polyphénols, sont enregistrés pour les espèces *P. granatum* (39 %) et *Z. mays* (37 %). Les

plus faibles valeurs en rendements des extractions notées pour *L. inermis* qui sont de 27%. Des travaux similaires ont rapporté la variabilité existante dans les valeurs des rendements d'extraction en composés phénoliques en fonction de l'espèce végétale. **KANOUN et al. (2014)**, notent que pour le même solvant organique (l'éthanol à 70%), le rendement d'extraction des écorces de *P. granatum* est de l'ordre de 37% qui est semblables à nos résultats. Dans ses travaux sur les feuilles de *L. inermis* **BEN HSOUNA et al. (2011)**, rapportent un rendement de 8.84 % pour l'extrait aqueux, ce taux est plus faible que à ce note dans nos travaux.

L'évolution du contenu en composés phénoliques des plantes étudiées, nous a permis de déduire que la concentration en ces métabolites varie d'une espèce végétale à l'autre. Des taux élevés sont notés dans l'extraits hydro-éthanolique de *P. granatum* 170 ± 10 mg EAG/g de MS, suivent de ceux mentionnés chez *L. inermis* 20 ± 1 mg EAG/g de MS et en dernier ceux de *Z. mays* 19 ± 3 mg EAG/g de MS.

SHIBAN et al. (2012), signalent des teneurs en polyphénols totaux de 274 ± 17 mg EAG/g de MS, dans l'extrait méthanolique à 80% des écorces de *P. granatum*, elles sont nettement supérieures à nos résultats. Les teneurs trouvées par **ENNEB et al. (2015)**, dans l'extrait méthanolique des feuilles de *L. inermis* 32 ± 03 mg EAG/g de MS semblent relativement proche de nos résultats. **UMA et WAN (2010)** notent une valeur supérieur de nos résultats, 4684.7 mg EAG/100g de MS pour l'extrait éthanolique à 60% et 6298.0 mg EAG/100g de MS pour l'extrait acétonique à 60%. **EBRAHIMZADEH et al. (2008)** ont trouvé des résultats nettement supérieurs à ceux de nos pour les extraits hydroéthanolique des styles de *Z. mays* qui sont de l'ordre de 118.94 ± 2.78 mg EAG/g de MS. En outre, **RAMOS-ESCUDERO et al. (2012)** trouvent une valeur de 8.67 ± 0.12 g EAG/kg de MS pour l'extrait méthanolique des grains de *Z. mays*, Ces résultats sont très proche à ceux trouves dans nos études.

La quantification du contenu en flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium, nous mène à conclure que, les teneurs en flavonoïdes varient entre 171 ± 5 et 86 ± 10 mg ER /g de MS. Les extraits hydroéthanoliques de *L. inermis* sont les plus riches en flavonoïdes, avec 171 ± 5 mg ER /g de MS suivi de ceux de *Z. mays* et *P. granatum* avec 97 ± 5 et 86 ± 10 mg ER /g de MS respectivement. **ENNEB et al. (2015)** Signalent des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de 20.5 ± 1.4 milligramme équivalent de quercitine par gramme de matière sèche (mg EQ /g de MS) pour l'extrait méthanoliques des feuilles de *L. inermis*. Aussi, **OJEWUNMI et al. (2014)** notent des teneurs de l'ordre de 49.47 ± 0.02 mg /100g de MS Pour les extraits éthanolique. Pour les styles de *Z. mays*, **EBRAHIMZADEH et al**

(2008) indiquent une concentration de 58.22 ± 1.34 mg ER /g de MS en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques, **RAMOS-ESCUADERO et al (2012)** trouvent une valeur de 2.61 ± 0.02 g ER/kg de MS pour l'extrait méthanolique de ces grains. Dans les écorces de *P. granatum*, **SHIBAN et al. (2012)** ainsi que **BENDJABEUR (2012)** notent des taux de 56.4 ± 2.7 mg ER /g de MS et 30.37 mg EQ/g de MS respectivement.

L'évolution du contenu en tanins condensés des plantes étudiées, nous a permis de déduire que la concentration en ces métabolites varie d'une espèce végétale à l'autre. Des taux relativement proche sont notés dans les extraits hydroéthanoliques de *Z. mays*, *P. granatum* et *L. inermis* avec 10 ± 1 , 9 ± 1 et 8 ± 0 mg EAG/g de MS respectivement. **ENNEB et al. (2015)**, signalent que la teneur en ces composés est de l'ordre de 17.93 ± 0.67 mg EC/g de MS pour l'extrait méthanolique des feuilles de *L. inermis*. **RAJAN et al. (2011)**, trouvent que l'extrait hydroalcoolique des fruits de *P. granatum* contient 81.66 ± 3.51 milligramme équivalent d'acide tannique par gramme de matière sèche (mg EAT/ g de MS).

L'évaluation du contenu en composés phénoliques dans divers organes et tissus d'un arbre peut-être un indicateur très pertinent de changements d'états dus aux différentes conditions environnementales ou une réponse à des conditions de traitement particulier. Le contenu en composés phénoliques est aussi sous très forte influence génétique (**BOIZOT et CHARPENTIER, 2006**).

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos plantes a été réalisée par trois tests chimiques (réduction de phosphomolybdate, piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS).

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante totale montrent que, les valeurs obtenus se situent entre 24 ± 1 et 12 ± 1 mg EAA /g de MS, des activités puissantes sont enregistrées chez *P. granatum* avec 24 ± 1 mg EAA /g de MS et des faibles pouvoirs réducteurs sont estimés chez *Z. mays* avec 12 ± 1 mg EAA/g de MS. **OJEWUNMI et al., (2014)**, signalent une activité antioxydante totale par méthode de phosphomolybdate pour l'extrait éthanolique des feuilles de *L. inermis* égale à 103.94 ± 0.001 mg/100g. Pour l'extrait éthanolique des écorces de *P. granatum*, **ZAHIN et al., (2010)** trouvent une activité antioxydante totale égale à 1041.9 ± 17.8 $\mu\text{mol/g}$.

L'estimation de l'activité antiradicalaire des différents extraits par les tests de DPPH et d'ABTS indiquent que tous les extraits présentent des activités antiradicalaires.

Les extraits de *P. granatum* montrent une capacité très puissante à piéger les radicaux DPPH et ABTS avec une concentration EC50 moyenne de l'ordre de 4.5 $\mu\text{g/ml}$. Suivis par

ceux de *L. inermis* avec une concentration EC50 évaluée de 51 µg/ml contre DPPH et 32 µg/ml contre ABTS.

Les extraits de *Z. mays* restent les moins actifs avec des EC50 de l'ordre de 95 ± 2 µg/ml contre DPPH et de 93 ± 3 µg/ml contre ABTS.

Les concentrations efficace EC50 les plus faibles sont signalées dans les extraits de *P. granatum* à raison de 5 ± 0 µg/ml et 4 ± 0 µg/ml pour le test de DPPH et ABTS, respectivement. Les extraits de *L. inermis* présentent des concentrations efficace EC50 de l'ordre de 51 ± 0 µg/ml et 32 ± 2 µg/ml pour le test de DPPH et ABTS, respectivement, alors que les extraits de *Z. mays* restent les moins actifs avec des EC50 de l'ordre de 97 ± 2 µg/ml et 93 ± 3 µg/ml contre DPPH et ABTS, respectivement. **BENDJABEUR et al., (2012)**, trouvent des EC50 pour piéger le DPPH égaux à 5.49 ± 0.039 µg/ml concernant l'extrait méthanolique des écorces de *P. granatum* qui est proche de nos concentrations, **RAJAN et al., (2011)** montrent que les extraits hydroalcooliques des fruits de même espèce ont révélés des EC50 pour piéger l'ABTS égaux à 41.16 ± 14.85 µg/ml. **OJEWUNMI et al., (2014)**, signalent que pour l'extrait éthanolique des feuilles de *L. inermis* la EC50 pour piéger le DPPH égale à 49.22 ± 0.01 µg/ml qui est proche de nos résultats, des travaux similaires portés par **GUHA et al., (2011)** ainsi que **ENNEB et al., (2015)** ont indiqué des EC50 de l'ordre de 32.87 ± 0.44 µg/ml et de 25.73 µg/ml respectivement des extraits méthanoliques de cette même espèce, ces résultats sont inférieurs à nos résultats, **GUHA et al., (2011)** dans ses travaux phytochimiques sur le même extrait, ont rapporté des EC50 de l'ordre de 12.59 ± 0.63 µg/ml contre l'ABTS. **RAMOS-ESCUDERO et al., (2012)**, dans ses travaux sur l'extrait méthanolique des graines de *Z. mays* notent des valeurs EC50 contre DPPH identiques à celle de nos espèces 76.6 ± 0.80 µg/ml.

L'activité antioxydante de nos échantillons peut être tributaire de leur richesse en composés phénoliques, les flavonoïdes possèdent une structure idéale pour le balayage des radicaux libres, puisqu'ils présentent un certain nombre d'hydroxyles agissant comme donneurs d'hydrogène, ce qui en fait d'importants agents antioxydants (**USMANI et al., 2013**).

Egalement, la variation d'activité antioxydante entre les espèces en fonction des tests peut être expliquée par le fait que cette activité antioxydante dépend non seulement de la

concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (**FALLEH *et al.*, 2008**).

La méthode d'ABTS a donné des valeurs EC50 inférieures à celles du test de DPPH, probablement parce que la méthode DPPH a plus de limites, la réaction de DPPH • avec la plupart des antioxydants est plus lente que dans le cas de ABTS^{•+} (**PRIOR *et al.*, 2005 ; MARTYSIAK-ZUROWSKA et WENTA, 2012**),. En outre, DPPH ne se dissout que dans les solvants polaires, alors que l'ABTS est soluble dans les solvants aqueux et organiques (**CANO *et al.*, 2000**). La méthode ABTS a une flexibilité supplémentaire car elle peut être utilisée à différents niveaux de pH, contrairement au DPPH, qui est sensible au pH acide, ce qui peut altérer significativement la mesure spectrophotométrique (**OU *et al.*, 2002**).

Conclusion

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futur médicaments, en effet les plantes possédant des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation.....) permettant l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie, ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires.

Le présent travail est effectuée sur *P. granatum*, *L. inermis* et *Z. mays*, espèces végétales très connues pour ses vertus thérapeutiques. Il a permis de mettre en évidence à travers une analyse phytochimique, la richesse de ces plantes en composés phénoliques.

La détermination du rendement en extraits bruts a montré que les rendements d'extraction varient considérablement entre les espèces végétales. Les meilleurs résultats sont enregistrés chez *P. granatum* et *Z. mays* avec des pourcentages allant de (39.72 %) à (37.39%).

La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés des extraits obtenus nous a permis de déduire que les plantes testées constituent une source prometteuse des composés phénoliques. Les teneurs en polyphénols totaux de nos extraits évaluées par la méthode de Folin-Ciocalteu sont comprises entre 19 ± 3 et 170 ± 10 mg EAG/g de MS. Celles des flavonoïdes estimées par la méthode de trichlorure d'aluminium sont variées entre 86 ± 10 et 171 ± 5 mg ER /g de MS alors que pour les tanins condensés dosé par la méthode de vanilline sont variées entre 8 ± 0 et 10 ± 1 mg EC /g de MS.

L'évaluation de l'activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate a montré que les espèces testées sont des puissants antioxydants, les valeurs obtenues se situent entre 12 ± 1 et 24 ± 1 mg EAA /g de MS. L'estimation du pouvoir antiradicalaire par les tests de DPPH et d'ABTS a révélé que les extraits hydroéthanoliques de *P. granatum* sont dotés une capacité très puissante à piéger le radical DPPH et ABTS avec EC50 moyenne égale à 4.5 µg/ml.

La richesse des espèces étudiées en composés phénoliques suggère fortement leur contribution dans leurs activités antioxydants.

Un travail complémentaire s'impose en vue d'identifier les différentes molécules en particulier les composés phénoliques présents dans les extraits bruts et les purifier en utilisant diverses techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et des méthodes spectrales pour l'élucidation structurale, d'évaluer et de tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur du modèle biologique en vue de les utiliser à des fins thérapeutiques.

Références bibliographiques

AGRI N., 1986. Les semences de Maïs. La nouvelle librairie, Paris, 96p.

AHSAH H., ALI A., ALI R., 2003. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and experimental immunology*, 131(3): 398-404.

ANDRE J., 2005. Vascular Organization of Angiosperms: A New Vision, Science Publishers, France, 140p.

ANDREYEV A.Y., KUSHNAREVA Y.E., STAR K.A., 2005. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (MOSCOW)*, 70: 200-214.

BARLOW S.M., 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Hudson, B.J.F, London, pp 253-307.

BAROUKI R., 2006. Stress oxydant et vieillissement, *Medecine/sciences*, 22(3): 266-272.

BEAUDEUX J.L. et DURAND G., 2008. Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives . Lavoisier, Paris, 607p.

BECKMAN K.B. et AMES B.N., 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiological reviews*, 78(2): 547-581.

BELLAOUEUR A. A., 2008. Etude hydrogéologique des eaux souterraines de la région de Ouargla soumise à la remontée des eaux de la nappe phréatique et perspectives de solutions palliatives (Sahara Nord-Est Septentrional-Algérie). Mémoire de Magister en sciences de la terre, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Alger.

BENDJABEUR S., 2012. Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade *Punica granatum L.*) en vue de leur utilisation alimentaire. Thèse de magister en sciences agronomiques, Ecole nationale supérieure agronomique, El-harrache-Alger.

BEN HSOUNA A., TRIGUI M., CULIOLI G., BLACHE Y., JAOUA S., 2011. Antioxidant constituents from Lawsonia inermis leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. Food Chemistry .125:193–200.

BENSLAMA A., 2016. substances d'origine végétale . Université Mohamed Khider-Biskra, Alger.

BOIZOT N. et CHARPENTIER J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Inra - amélioration, génétique et physiologie forestières, laboratoire d'analyses biochimiques.

BONNEFONT-ROUSSELOT D., PEYNET J., BEAUDEUX J.L., THEROND P., LEGRAND A., DELATTRE J., 2002. Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. Nutrition clinique et métabolisme, (16): 260-267.

BOUDRA A. et ROUADE H., 2003. Etude bibliographique de la flore médicinale dans la région Ouargla. Thèse ingénieur, Université de Kasdi-Merbah Ouargla, Alger.

BOULLARD B., 1997. Plantes et champignons. Estem, Paris, 875p.

BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-Wiss. U. Technol, 28: 25-30.

BRUNETO J., 1999. Pharmacognosie phytochimie plante médicinales. édition N 3:Tec et Doc, Paris, 1120p.

BRUNETO J., 2009. Pharmacognosie: phytochimie plante médicinales. Lavoisier, 1292p.

CANO A., ACOSTA M., ARNARO M.B., 2000. A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. Redox Rep. 5 (6), 365-370.

CHENGAIAH B., MALLIKARJUNA R.K., MAHESH K.K., CHRISTOPHE W., PHARMD P., 2012. Medicinal plants of china, korea, and japan: bioresources for tomorrow's drugs and cosmetics. Taylor and francis group, London, 454p.

CLAY H.F., HUBBARD J.C., GOLT R., 1987. Tropical Shrubs. University of Hawaii Press, Honolulu, 284p.

COLLIN S. et CROUZET J., 2011. Polyphenole et procédéé. Lavoisier, Paris, 337p.

COMHAIR S.A. et ERZURUM S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. Am J Physiol lung cell mol physiol, 283(2): 246-255.

CORINNE A., 2010. Stress oxydatif, calcium et thermalisme. Press Therm Climat,147(2): 121-138.

DAAS AMIOUR S., 2009. Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation in vitro de leur activité biologique. Mémoire Présenté Pour l'obtention de diplôme de Magister en Biologie Option Biochimie appliquée. Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Alger.

DACOSTA Y., 2003. Les phytonutriments bioactifs. yves dacosta, paris, 317p.

DEHAK D.K., 2013. Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles: Polyphénols. Doctorat de Chimie : Analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaire. Université de Kasdi Merbah Ouargla, Alger.

DE MOFFARTS B., KIRSCHVINK N., PINCEMAIL J., LEKEUX P., 2005. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. Ann. Méd. Vét, (149): 1-9.

DELATTRE J., BEAUDEUX J.L., BONNEFONT-ROUSSELOT D., 2005. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier TEC et DOC, Paris, 587p.

DELATTRE J., DURAND G., JARDILLIER J.C., 2003. Biochimie pathologique. Médecine sciences Flammarionl, Paris, 317p.

DJAHRA A.B., 2015. Cours Phytochimie II 2ème Année Master II ,Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Alger.

DROGE K.S., 2002. Free radicals in physiological control of cell function. *Physiological. Rev*, (82): 47-95.

DUPIN H., CUQ L.J., MALEWIAK M., LEYHOUD-ROUAUD C., BERTHIER M., 1992. Alimentation et nutrition humaines. ESF éditeur, Paris, 1533p.

DURAFFOURD C. et LAPRAZ J., 1998. Traité de phytothérapie clinique. Masson, Paris, 827p.

EBRAHIMZADEH M.A., POURMORAD F., HAFEZI S., 2008. Antioxidant activities of iranian corn silk. *Turk Journal of biol*, 32: 43-49.

ENNEB H., BELKADHI A., CHEOUR F., FERCHICHI A., 2015. Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis L.*). *Journal of new sciences*, 20(2).

ERDMAN J., BALENTINE J.D., ARAB L., BEECHER G., DWYER J.T., FOLTS J., HARNLY., HOLLMAN J. P., L –KEEN C., MAZZA G., MESSINA M., SCALBERT A., VITA J., WILLIAMSON G., BURROWES J., 2007. Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, Washington. *J. of Nutrition*, 137 (3): 718-737.

FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. et ABDELLY C., 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities, *C. R. Biologies*. 331 : 372-379.

FARNSWORTH N.R., AKERELE O., BINGEL A.S., SOEJARTO D.D., GUO Z., 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64 (2) :159-164.

FAVIER A., 2003. Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 115p.

FLOSS H.G., 1997. Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. Natural product reports, volum14.

FONTAINE E., BARNOUD D., SCHWEBEL C., LEVERVE X., 2002. Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. Scientifiques et médicales Elsevier SAS, (11): 411-420.

GARDES-ALBERT M., BONNEFONT-ROUSSELOT D., ABEDINZADEH Z., JORE D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. L'actualité chimique, 96p.

GEOPTAR A.R., SCHEERENS M., VERMEULEN N.P., 1995. Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P 450. Critical reviews in toxicology, (25): 25-65.

GERHARD R., 1993. Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaires romandes, Suisse, 526p.

GIRRE L., 2001. Les plantes et les médicaments: L'origine végétale de nos médicaments. Delachaux et Niestlé SA, Paris, 253p.

GRAVOT A., 2009. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support de cours sur le métabolisme secondaire (Support de cours), Université de Rennes 1 – L2 UE PHR.

GUHA G., RAJKUMAR V., MATHEW L., KUMAR R.A., 2011. The antioxidant and DNA protection potential of indian tribal medicinal plants. Turk journal of biol, 35: 233-242.

GUZIC T.J., KORBUT R., ADAMEK-GVZIK T., 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of physiology and pharmacology*, 54(4): 469-487.

HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGN J.O., CHARLIER C., CHAPELLE J.P., 2007. Le stress oxydant. *Rev med liege*, (62): 10: 628-638.

HALIWELL B., 1994. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 344 (8924): 721-724.

HALLIWEL B., 1989. Free radicals, reactive oxygene species and human disease: a critical evaluation withe special reference to atherosclerosis. *Br. J Exp. Pathol*, (70): 737-757.

HARRAR A., 2012. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas, Sétife, Alger.

HASLAM E., 1996. Natural polyphenole (végétale tannins) as drugs possible modes of action. *Journal of nationale production*, 59: 205-215.

HIDER R.C., LIU Z.D., KHODER H.H., 2001. Métal chélation of polyphénols. *Method in Enzymol*, 335, 190-203.

HMID I., 2014. Contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum* L.): caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais. Thèse de Doctorat, Université de Béni Mellal, Maroc.

HOPKINS W.G., 2003. *Physiologie végétale*. De Boeck, Paris, 532p.

ITO N., FUKUSHIMA S., TSUDA H., 1985. "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants". *CRC Critical Reviews in Toxicology*, (15): 109-150.

JACQUOT M., FAGOT P.H., VOILLEY A., 2012. *La couleur des aliments de la théorie à la pratique*. Lavoisier, Paris, 512P.

JARRIGE R., RUCKEBUSCH Y., DEMARQUILLY C., FARCE M. H., JOURNET M., 1995. Nutrition des ruminants domestique : ingestion et digestion. Quae, 921p.

JULKUMEN-TITTO R., 1985. Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics, Journal of Agriculture and Food chemistry, 33: 213-217.

KANOUN K., ABBOUNI B., BENINE M.L., BENMAHDI F.Z., MAROUF B., 2014. Etude de l'efficacité de l'extrait éthanolique d'écorces de *Punica granatum linn* sur deux souches phytopathogènes: *Ascochyta rabiei (pass.) labr.* et *Fusarium oxysporum f.sp.radicis – lycopersici*. European scientific journal, 10(12).

LACRAZ G., 2009. Relation entre stress oxydant et homéostasie glucidique au cours de diabète de type 2: Adaptation de la cellule β pancréatique. Thèse doctorat en Physiologie et Physiopathologie. Université de Paris.

LEE J., KOON N., MIN D.B., 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive reviews in food science and food safety, 3(1): 21-33.

LISU W., JUI-HUNG Y., HSIAO-LING L., MING-JIUAN W., 2003. Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). Food and drug analysis, 11(1): 60-66.

LUGASI A., HOVARI J., SAGI K., BIRO L., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Journal of actualité biological, 47: 119-125.

MACHEIX J.J., ANNIE S., CHRISTAN J.A., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. presses polytechniques et universitaire romandes, Paris, 192p.

MANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006 . Les polyphénols en agroalimentaire. Tec et Doc, Paris, 398p.

MANSOUR H.B., YATOUJI S., MBAREK S., HOUAS I., DELAI A., DRIDI D., 2011. Correlation between antitubercular cholinesterase and antioxidant activities of three aqueous extracts from Tunisian *Rhus pentaphyllum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10: 32.

MARC F., DAVIN A., BENBRAHIM L., FERRAND C., FRITCH P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Science*, 20: 458-463.

MARTINI M.C., 2011. Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier, Paris, 309p.

MARTYSIAK-ŻUROWSKA D. et WENTA W., 2012. A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta sci. pol., technol. aliment.* 11(1), 83-89.

MATES J.M., PEREZ-GOMEZ C., NUNEZ DE CASTRO I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, (32):595-603.

MOHAMMEDI Z., 2012. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse doctorat en biologie. Université de Aboubekr belkaide, Telemcen, Alger.

MORAND C. et MILENKOVIC D., 2014. Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*, (42): 47-62.

NARAYANA K.R., REDDY M.S., CHALUVADI M.R., KRISHNA D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. of pharmacology*, 33: 2-16.

NKHILI E., 2009. Polyphénols de l'alimentation: extraction, interaction avec les ions de fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse doctorat universités CADI AYYAD Semlalia-Marrakech.

OAKMAN HARRY., 1995. What Flowers when: the complete guide to flowering times in tropical and subtropical gardens. Harry oakman, Australia, 144p.

OJEWUNMI O.O., OSHODI T., OGUNDELE O.I., MICAH C., ADENEKAN S., 2014. In vitro antioxydant, antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic activities of ethanol extract of *Lawsonia inermis* leaves. British journal of pharmaceutical research, 4(3): 301-314.

OU B., HUANG D., HAMPSCH-WOODILL M., FLANAGAN J., DEEMER E K., 2002. analysis of antioxydant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (orac) and ferric reducing antioxydant power (frap) assays : a comparative study. J. agric. Food chem., 50: 3122-3128.

OULD EL HADJ M.D., HADJ-MAHMED M., ZABEIROU H., 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrionale est). Courrier du Savoir-N°03, pp47-51.

OZENDA P., 1991. Flore de Sahara. Mise à jour et augmentée. 3ème ed. Dunod. CNRS, Paris, 262 p.

PASTRE J. et PRIYMENKO N., 2007. Intéret des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd.vét, 158(4): 180-189.

PELLETIER E., CAMPBELLE P.G.C., DENIZEAU F., 2004. Ecotoxicologie moléculaire Principes fondamentaux et perspective de développement. Presses de l'université du Québec, Canada, 500p.

PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., DEFRAIGNE J.O., 1999. Espèces oxygénées activeés, antioxydants et cancer. Vaisseaux, Coeur, poumons. (4) .N°5.

- PINCEMAIL J. et DEFRAIGNE J.O., 2003.** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone: un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, poumons*, 2(8):55-56.
- POUSSET J.L., 2004.** *Plantes médicinales d'Afrique*. Edisud, France, 288p.
- POWERS S.K., SMUDER A.J., KAVAZIS A.N., HUDSON M.B., 2010 .** Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, (20): 2-14.
- PRIETO P., PINEDA M., AGUILAR M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical, Biochem*, 296: 337–341.
- PRIOR R.L., WU X., SCHAICH K., 2005.** Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem*, 53, 4290-4302.
- QUETTIER-DELEU C., GRESSIER B., VASSEUR J., DINE T., BRUNET C., LUYCKX M., CAZIN M., CAZIN J.C., BAILLEUL F., TROTIN F., 2000.** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Ethnopharmacology*, 72(1-2): 35-42.
- RAJAN S., MAHALAKSHMI S., DEEPA V.M., SATHYA K., SHAJITHA S., THIRUNALASUNDARI T., 2011.** Antioxidant potentials of *punica granatum* fruit rind extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (3): 82-88.
- RAMOS-ESCUADERO F., MUNOZ A.M., ALVARADO-ORTIZ C., ALVARADO A., YANEZ J., 2012.** A Purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds Profile and Its Assessment as an Agent Against Oxidative Stress in Isolated Mouse Organs. *J Med Food*, 15(2): 206–215.
- RAVEN H., EVERT R. F., EICHHORN S. E., 2000.** *Biologie végétale*. De Boeck, Paris, 944p.

RIBEREAU-GAYON P., 1968. Les composées phenolique des végétaux. Dunod, Paris, 202p.

RICHE D. et CHOSE D., 2008. Micronutrition, santé et performance. Groupe de Boeck et Larcier, Paris, 372p.

RIEDACKER A., DREYER E., PAFADNAM C., JOLY H., BORY G., 1993. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi arides. Jonn Libbbey Eurotext, Paris, 489p.

ROUX D. et CATIER O., 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Groupe Liaisons, France, 141p.

ROTH I. et LINDORF H., 2013. South american medicinal plants : botany, remedial properties and general use. Springer-Verlag, Berlin, 492p.

SANDHAR H.K., KUMAR B ., PRASHER S., TIWARI P., SALHAN M., SHARMA P., 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. Internationale Pharmaceutica Scientia, 1 (1): 25-41.

SAYRE L.M., MOREIRA P.I., SMITH M.A., PERRY G., 2005. Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. Ann. Ist. Super. Sanità, 41 (2): 143-164.

SCHAUENBERG. et PARIS F., 2013. Les plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Niestlé, Paris, 369p..

SEBAI M. et BOUDALI M., 2012. La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel, infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA, Alger.

SHIBAN M.S., AL-OTAIBI M.M., AL-ZOREKY N.S., 2012. Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. Food and Nutrition Sciences, (3): 991-996.

SINGLETON V. L. et ROSSI J A., 1965. Indice de Folin, polyphenols totaux. Eol. Vitic, 16: 144-158.

SMALL E. et CATLING P.M., 2000. Les cultures médicinales canadiennes. Presses scientifiques du CNRC, Ottawa (Ontario), Canada. 281p.

SOFOWORA A., 2010. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Paris, 384p.

STALLER J.E., 2010. Maize Cobs and Cultures: History of *Zea mays* L. Springer-Verlag, Berlin, 262p.

TACCHINI P., 2014. Les radicaux libres et l'oxydation. EDEL THERAPEUTICS, PSE-B, 1015 LAUSANNE.

TALBI H., BOUMAZA A., EL-MOSTAFA K., TALBI J., HILALI A., 2015. Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigellasativa* L., Mater. Environ. Sci, 6 (4): 1111-1117.

THIEBAULD C.M. et SPRUMONT P., 1998. L'enfant et le sport: introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant. De boeck et larciers, Paris, 464p.

TRAMIL., 1999. Pharmacopée caribéenne. Emile désormeaux, France, 493p.

TSIMOGIANNINS D. et OREPOLOU V., 2006. The contribution of flavonoide curing on DPPH free radical scovenging efficiency, acinetic approach for 3',4'-hydroxy substituted membres innovat . food sciece technique, (7): 140-146.

UMA D.B., WAN W.M., 2010. Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from henna (*Lawsonia inermis*) leaves (pengoptimuman parameter pengestrakan jumlah sebatian fenolik daripada daun inai (*Lawsonia inermis*). Sains malaysiana, 39(1): 119–128.

USMANI S., HUSSAIN A., FAROOQUI A.H., 2013. Determination of infochemicals, phytochemical screening and evaluation of antioxidant potential of *Digera muricata*. Scholars research library, 5(2): 3-4.

VAN ACKER S., VAN DEN BERG D-J., TROMP M., GRIFFIOEN D.H., VAN BENNEKOM W P.,VAN DER VIJGH W., BAST A., 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free Radic. Biol. Med, (50): 331-342.

VERCAUTEREN J., CHEZE C., TRIAUD J., 1998. Polyphenols 96. INRA, Paris.

WASSMANN S., WASSMANN K., NICKENIG G., 2004. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hyperten, (44): 381-386.

WEAVER L.M. et HERRMANN K.M., 1997. Dynamics of the shikimate pathway in plants. Trends in plant science, 2(9): 346-351.

WIART C., 2012. Medicinal plants of china, korea, and japan: bioresources for tomorrow's drugs and cosmetics. CRC Press (taylor and francis group), London, 454p.

WILSON K.L. et MORRISON D.A., 2000. Monocots: Systematics and Evolution. Csiro Publishing, Australia, 728p.

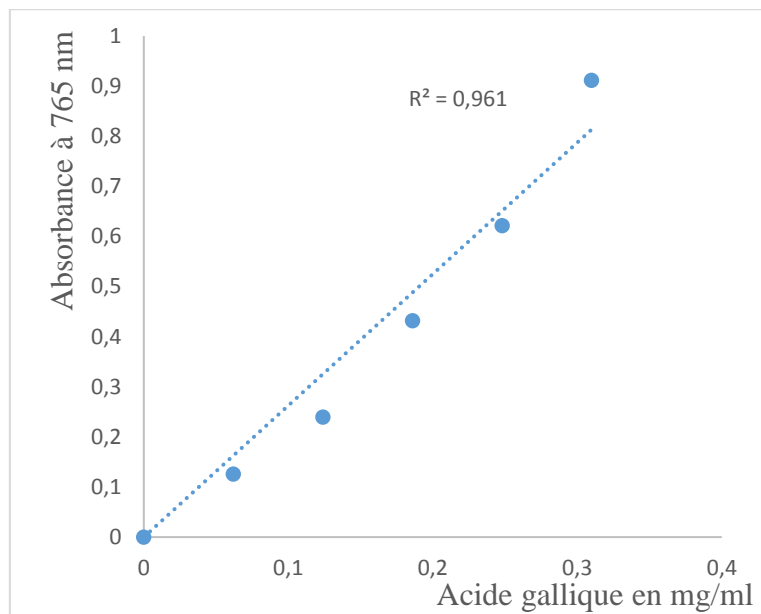
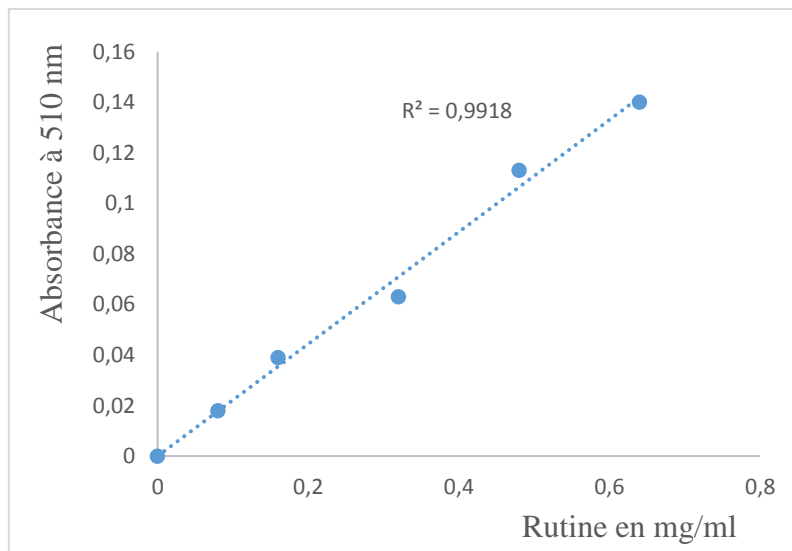
YAMASHITA N., TANEMURA H., KAWANISHI S., 1999. Mechanism of oxidative DNA damage induced by quercetin in the presence of Cu(II). Mutat Res, 425: 107–115.

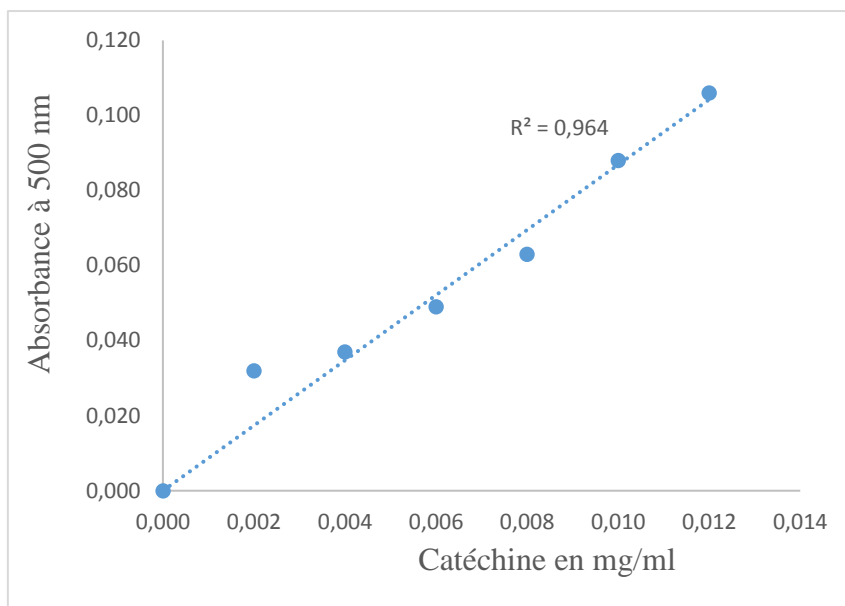
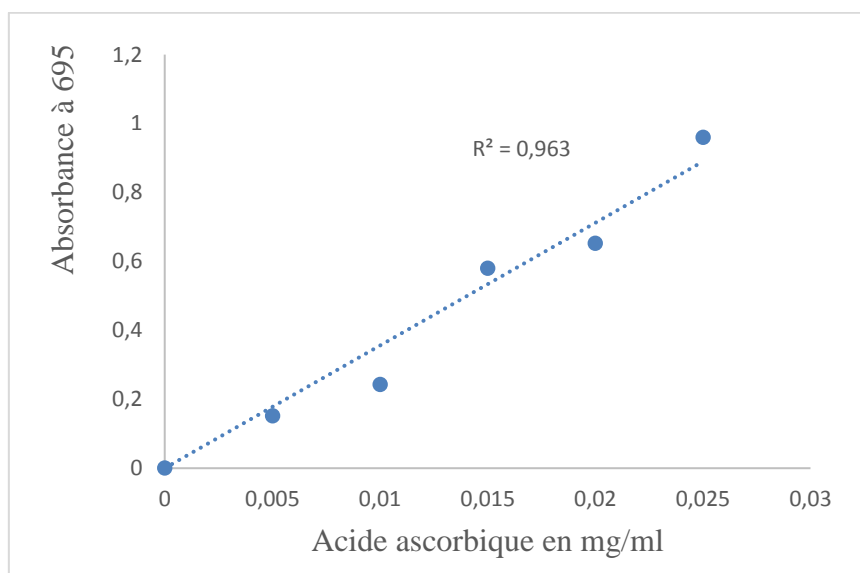
YU R ., MANDLEKAR S., TONY KONG A.N., 2000. "Molecular mechanisms of butylated hydroxylanisoleinduced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c". Molecular Pharmacology, (58): 431- 437.

ZAHIN M., AQIL F., AHMAD I., 2010. Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of *Punica granatum* L. peel extracts. Mutation Research. 703(2):99-107.

ZEGHAD N., 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine, Alger.

Annexes

Annexe 01: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.**Annexe 02:** Courbe d'étalonnage de la rutine.

Annexe 03: Courbe d'étalonnage de catéchine.**Annexe 04:** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des trois espèces: *Punica granatum* L. (Grenadier); *Zea mays* L. (Maïs) et *Lawsonia inermis* L. (Henné).

Résumé :

La présente étude est une contribution à la valorisation de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional algérien. Des extraits éthanoliques sont préparés à partir des écorces de *Punica granatum*, styles de *Zea mays* et les feuilles de *Lawsonia inermis*. Les rendements sont de l'ordre de 39.72 % chez *Punica granatum*, 37.39 % chez *Zea mays* et de 27.18 % pour *Lawsonia Inermis*. Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins de nos extraits sont déterminés par colorimétrie, les résultats obtenus sont comprises entre (170 ±10 et 19 ± 3 mg EAG/g de MS), (171 ± 5 et 86 ± 10 mg ER/g de MS), et (10 ± 1 et 8 ± 0 mg EC/g de MS), respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante est effectuée par le test de réduction de phosphomolybdate et les tests de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS. Les données de l'activité antioxydante totale se situent entre 24 ± 1 et 12 ±1 mg EAA/g de MS. Les extraits de *Punica granatum* sont les plus puissants pour piéger le DPPH et l'ABTS avec une EC50 moyenne estimée à 4.5 µg/ml.

Mots clés : *Punica granatum*, *Zea mays*, *Lawsonia inermis*, composés phénoliques, activité antioxydante.

Contribution to the study of the antioxidant activity of the phenolic extracts of the three species: *Punica granatum* L. (Grenadier); *Zea mays* L. (Maize) and *Lawsonia inermis* L. (Henna).

Summary:

The present study is a contribution to the valorization of some medicinal plants of the Algerian northern Sahara. Ethanolic extracts are prepared from the bark of *Punica granatum*, *Zea mays* styles and and the leaves of *Lawsonia inermis*. The yields are of the order of 39.72%, in *Punica granatum*, 37.39% in *Zea mays* and 27.18% in *Lawsonia Inermis*. The total phenol, flavonoid and tannin contents of our extracts are determined by colorimetry, the results obtained are between (170 ± 10 and 19 ± 3 mg EAG / g DM), (171 ± 5 and 86 ± 10 mg ER / g MS), and (10 ± 1 and 8 ± 0 mg EC / g MS), respectively. Evaluation of the antioxidant activity is carried out by the phosphomolybdate reduction test and the free radical scavenging tests DPPH and ABTS. Data for total antioxidant activity ranged from 24 ± 1 to 12 ± 1 mg EAA / g DM. Extracts from *Punica granatum* are the most potent to trap DPPH and ABTS with an average EC50 estimated at 4.5 µg / ml.

مساهمة لدراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية لثلاثة أنواع: الرمان؛ الذرة والحناء الملخص:

تعد هذه الدراسة مساهمة في تعزيز بعض النباتات الطبية من شمال الصحراء الجزائرية. تم إعداد المستخلصات الإيثانولية من لحاء الرمان (*Punica granatum* L.)، وأساليب للذرة شامية (*Zea mays* L.) و أوراق الحناء (*Lawsonia inermis* L.). المرود المتحصل عليه بقيمة 39.72% في الرمان، 37.39% في ذرة شامية و 27.18% لأوراق الحناء. تم تحديد الكمية الإجمالية للبوليفينول، الفلافونويد والعفص لمستخلصاتنا من خلال الفحص اللوني، النتائج التي تم الحصول عليها ما بين (170 ± 10 و 19 ± 3 ملغ مكافئ حمض الغاليك / غ من المستخلص)، (171 ± 5 و 86 ± 10 ملغ مكافئ حمض الغيتين / غ من المستخلص) و (10 ± 1 و 8 ± 0 ملغ مكافئ الكاتيشين / غ من المستخلص)، على التوالي. لقد تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق ارجاع الفوسفوموليبيدات و إختبارات محاصرة الجذور الحرة من DPPH و ABTS. إجمالي النشاط المضاد للأكسدة يتراوح ما بين 12 ± 1 و 24 ± 1 ملغ مكافئ حمض الأسكوربيك / غ من المستخلص. مستخلص لحاء الرمان هو الأقوى اعتراض ل ABTS و DPPH مع متوسط EC50 قدر ب 4.5 ميكروغرام / مل.

الكلمات المفتاحية: الرمان، ذرة شامية، أوراق الحناء، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة.