

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Biochimie Appliquée
Filière : Sciences Biologiques



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Effet des extraits des feuilles de « verbena officinalis » sur la stabilité thermique des protéines du blanc l'œuf

Présenté par :

Mr AOURIR Abdelkader & M^{elle} OUHENIA Amel

Soutenu le : 15 Septembre 2022 Devant le jury composé de :

Mme KADJI H	Prof	Président
Mr TACHERFIOUT M	MCB	Examineur
Mme. KHETTAL B	ProF	Promotrice

Années Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'achever ce travail.

Nos vifs remerciements au Pr Khettal B. qui nous a proposé le thème de ce mémoire, pour son encadrement, ses orientations, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé pour réaliser ce travail.

Nos sincères remerciements pour les membres du jury Dr Khireddine-Remila S. (Présidente) et Dr. Tacherfiout M. (Examineur) pour avoir accepté de juger ce travail

Nous tenons à remercier Mme mamasse H, ingénieur de laboratoire pédagogique du département BPC de l'université de Bejaïa.



- Mr Abdelkader & M^{elle} Amel -

Dédicace

A la mémoire de mes grands-mères et mes grands-pères ainsi que mon frère. Je dédie ce mémoire à mes parents qui ont été la source de tendresse et l'exemple du dévouement, qui n'ont pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mes très chers frères Abdelaziz et Nabil, mes chères sœurs Biba, Naïma, Lila et Nacira.

Je dédie ce travail aussi, A mes tantes et oncles, A mes cousins et cousines.

A ma binôme Amel et mes aimables amies Kenza, Sabrina, Dyhia, et Katia.

A Mazigh, qui m'a toujours aidé et encouragé, qui était toujours à mes côtés

Merci infiniment.



Mr Abdelkader-

Dédicace

Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la Compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade

Je dédie Ce travail :

**A ma très chère mère « tassadit » tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

A mon cher père pour son encouragement quotidien.

**A ma chère sœur « Sonia » pour son soutien indéfectible*

**A mes chers frère Mohand et Yazid.*

**A ma chère cousine Yasmína*

**A toutes mes amis, Hani, Kim Farah, Yacine, Mohand.*

**à mon cher ami Foudil.*

A lamíne qui a été ma source de motivation.

 - M^{lle} Amel

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction generale 1

Chapitre I

L'inflammation et les anti-inflammatoires

I.1. Types et phases principales de l'inflammation	4
I.1.1. Types de l'inflammation	4
I.1.1.1. L'inflammation aigue	4
I.1.1.2. L'inflammation chronique	4
I.1.2. Phases principales de l'inflammation	4
I.1.2.1. Phase vasculaire	4
I.1.2.2. Phase cellulaire	5
I.2. Les principaux médiateurs de l'inflammation	6
I.2.1. Les médiateurs cellulaires	6
I.2.2. Le radical superoxyde, O ₂	9
I.3. Les anti-inflammatoires	11
I.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	11
I.3.1.1. Mode d'action	11
I.3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	12
I.3.2.1. Mode d'action	12
I.3.3. Les anti-inflammatoires naturels	13

Chapitre II

Stress oxydatif et le pouvoir antioxydant

II.1. Généralités sur le stress oxydant	16
II.1.1. Le stress oxydatif	16
II.1.2. Antioxydants	16
II.1.3. Radicaux libres	16
II.2. Pro-oxydants	17
II.2.1. Espèces Réactives de l'Oxygène	17
II.2.2. Sources des pro-oxydants	18
II.2.2.1. Sources non-enzymatiques	18
II.2.2.2. Principale source enzymatique NADPH oxydase	19
II.3. Les anti-oxydants non enzymatique	19
II.3.1. Principale source non enzymatique	19
II.3.1.1. L'acide L ascorbique (ASC)	19
II.3.1.2. Le glutathion	19
II.3.1.3. La vitamine E	19
II.3.1.4. Les polyphénols	20
II.3.1.5. Les flavonoïdes	20

Sommaire

II.3.1.6. Tannins.....	20
II.3.1.7. Les caroténoïdes	21
II.3.2. Principaux anti-oxydants enzymatiques	21
II.3.2.1. Les super oxyde dismutases (EC 1.15.1.1)	21
II.3.2.2. Les catalases (EC 1.11.1.6).....	21
II.3.2.3. Les peroxydases (POX) (EC 1.11.1 .x)	22

Chapitre III

Plantes a potentiels antioxydant et anti-inflammatoire

III.1. Les plantes à potentiels antioxydant et anti-inflammatoire	24
III.2. Cas de la verveine (<i>Verbena officinalis</i>)	27

Chapitre IV

Materiels et methodes

IV.1. Obtention des extraits aqueux de <i>Verbena officinalis</i>	30
IV.2. Dosage des polyphénols	31
IV.2.1. Principe de la méthode	31
IV.2.2. Mode opératoire	31
IV.3. Dosage des flavonoïdes	31
IV.3.1. Principe de la méthode	31
IV.3.2. Mode opératoire	31
IV.4. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH.....	32
IV.4.1. Principe.....	32
IV.4.2. Mode opératoire	32
IV.5. Mesure du Pouvoir réducteur	32
IV.5.1. Principe.....	32
IV.5.2. Mode opératoire	32
IV.6. Evaluation du potentiel anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	33
IV.6.1. Extraction de l'ovalbumine	33
IV.7. Mise au point du test de dénaturation thermique de l'ovalbumine	33
IV.7.1. Traitement thermique de la solution d'ovalbumine partiellement purifiée.....	33
IV.7.2. Estimation de taux de dénaturation thermique des protéines	35
IV.8. Evaluation de l'effet d'extrait aqueux sur la stabilité thermique de l'ovalbumine	35
IV.9. Analyse statistique.....	35

Chapitre V

Resultats et discussions

V.1. Taux d'extraction.....	37
V.2. Taux des polyphénols et flavonoïdes.....	37
V.3. Activité antioxydant	39
V.3.1. Activité anti-radicalaire	39
V.3.2. Le pouvoir réducteur.....	40
V.4. Potentiel anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	42
V.4.1. Effet du traitement thermique sur les protéines du blanc d'œuf.....	42

Sommaire

V.4.2. Évaluation de l'effet de l'extrait de verveine officinale sur la stabilité thermique de l'ovalbumine.....	44
Conclusion generale.....	46
Reference bibliographiques.....	49
Annexes.....	60

Liste d'abréviation

Liste d'abréviation

AC : Absorbance du control

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

AO : Amine-oxydase

AP-1 : Protéine activatrice-1

ASC : Acide ascorbique

CuZnSOD : Cuivre-Zinc super-oxyde dimustase

COX : Cyclooxygénase

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EQ : Equivalent de Quercétine

EOA : Espèces oxygénées activées

ERO : Espèces réactives oxygénées

Fe²⁺ : Fer

Fe³⁺ : Oxyde ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

FeSOD : Super-oxyde dimustase

FNR : NADP réductase

HO· : Radical hydroxyle

K₃Fe : ferricyanure de potassium

NaCl : Chlorure de sodium

NADP : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate

NADPH : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate.

NADPH : Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate

NaOH : Hydroxyde de sodium

NO : Monoxyde d'azote

O₂^{·-} : Anion super oxyde

OH : Anion super oxyde

Liste d'abréviation

POX : Peroxydase

ROS : espèces chimiques oxygénées

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloracétique

TNF- α : Tumor Necrosis Factor α (facteur de nécrose tumorale α)

$^1\text{O}_2$: Oxygène singlet

Liste des tableaux

Tableau 1: Effets des principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire. .	7
Tableau 2: Quelques plantes à effets anti-inflammatoire.....	14
Tableau 3: Plantes à potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.....	24
Tableau 4: Classification botanique la verveine (<i>verbena officinalis</i>).	28
Tableau 5: Tableau représente les différents barèmes du traitement thermiques du blanc d'œuf.....	34
Tableau 6: Taux d'extraction	37
Tableau 7: Teneurs des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux de <i>Verbena officinalis</i>	38
Tableau 8: Taux d'inhibitions de la dénaturation thermique des protéines du blanc d'œuf	44

Liste des figures

Figure 1 : Recrutement des leucocytes vers le site inflammatoire (Kumar et al., 2014)....	6
Figure 2 : Activation de la NADPH oxydase (Hurtado-Nedeleca et al., 2014).....	10
Figure 3 : Productions des espèces réactives dans les neutrophiles (Serteyn, 2003)	11
Figure 4 : Mécanisme d'action des AINS au sein de la cascade inflammatoire (Lefebvre,2014)	12
Figure 5 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Sibilia, 2003).....	13
Figure 6 : Photographie des feuilles de <i>verbena officinalis</i> sec (originale).	30
Figure 7 : Taux d'inhibition du radical DPPH de l'extrait aqueux EI20 de « <i>Verbena officinalis</i> » à différentes concentrations.	39
Figure 8 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles de verveine V1= 1ml (bleu) et V2 = 0,500ml (orange)	41
Figure 9 : Effets du traitement thermique de 3,10 et 20 Minutes sur la turbidité des solutions du blanc d'œuf (dilution à 1/20, avec l'eau distillé mesuré et réalisée immédiatement après traitement thermique).....	43

Introducción General

D'après l'organisation mondiale de la santé (l'OMS) environ 80% de la population mondiale ont recours aux plantes médicinales et à la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies.

Depuis son existence, l'homme a eu une relation très étroite avec les plantes médicinales pour se protéger du froid et du soleil, se nourrir et se traiter des blessures et même prévenir plusieurs maladies. Les plantes sont considérées comme une source majeure des substances utilisées à vertus thérapeutiques, leurs efficacités en tant que remède naturel a été largement démontrée.

Les effets thérapeutiques des plantes sont dus principalement dus à leurs métabolites secondaires comme les polyphénols et les flavonoïdes. Ces composés possèdent diverses propriétés pharmacologiques notamment comme antioxydant et anti-inflammatoire **(Toyama et al.,1999)**.

Verbena officinalis (la verveine), une plante appartenant la famille des verbénacées très répandue en Afrique considérée comme une plante médicinale très appréciée au cours des siècles, c'est une source potentielle des molécules naturelles bioactives qui a fait l'objet de plusieurs études pour leurs éventuelles utilisations comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses **(Bellakhdar et al. 1994)**.

L'objectif de cette étude réalisée dans le cadre du mémoire de master est de déterminer, *in vitro*, le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire de la verveine officinale disponible dans le commerce. En l'occurrence, le test anti radicalaire au DPPH et le test du pouvoir réducteur du fer pour l'activité antioxydants et le test de la stabilité thermique des protéines pour le l'évaluation le potentiel antiinflammatoire.

Ce mémoire comporte deux parties :

- A. Une partie bibliographique qui relate les informations relatives au stress oxydant et les antioxydants d'une part et l'inflammation et les anti-inflammatoires d'autre part. En citant en fin de partie, quelques exemples de plantes à pouvoir antioxydants et anti-inflammatoire.
- B. Une partie expérimentale qui décrit le travail pratique réalisé et les résultats obtenus :
 - ✓ Extraction des métabolites bioactifs de la verveine par décoction ;

Introduction Générale

- ✓ Dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux obtenu ;
- ✓ Test anti radicalaire au DPPH et test du pouvoir réducteur ;
- ✓ Effet de l'extrait aqueux de la verveine sur la stabilité thermique de l'ovalbumine.

Chapitre I

L'inflammation et les anti- inflammatoires

I.1. Types et phases principales de l'inflammation

I.1.1. Types de l'inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense vital pour la santé et est déclenchée par des stimuli nocifs tels que des cellules endommagées par des agents pathogènes, des composés toxiques ou des radiations, et elle agit en supprimant ces stimuli pour favoriser la guérison et restaurer l'homéostasie du tissu affecté. (**Pacheco et al., 1993 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018**).

I.1.1.1. L'inflammation aigue

L'inflammation aigue se caractérise par des modifications locales, elle est immédiate avec une fonction de progression des tissus contre l'agent pathogène. L'inflammation disparaît une fois l'agent éliminé, et la lésion commence à se cicatrifier et les diverses structures et fonctions se rétablissent (**Maud, 2016**).

I.1.1.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à la persistance de l'agent pathogène à cause de l'échec de la réponse inflammatoire aigue ou d'une réponse inappropriée (**Ibrahima, 2019**). Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années. Dans ce type de réponse, les phénomènes d'inflammation, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Par conséquent, les tissus ne se régénèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologique s'installe (**Weill et al., 2003**).

I.1.2. Phases principales de l'inflammation

La réponse immunitaire commence par une phase de reconnaissance, au cours de laquelle certains récepteurs seront exposés à la surface de cellules particulières (mastocytes, macrophages et cellules dendritiques), reconnaissant des composants communs à des groupes de pathogènes d'origine, qu'ils soient endogènes ou exogènes. (**Essakalli et al., 2009**). Ayant pour but de les détruire grâce à l'activation d'un certain nombre de médiateurs moléculaires et cellulaires. Elle est caractérisée par trois phases : vasculaire, cellulaire et de résolution.

I.1.2.1. Phase vasculaire

Au cours de la phase vasculaire, l'augmentation du flux sanguin, suite à la sécrétion de médiateurs vasoactifs tels que l'histamine ou la sérotonine par les mastocytes et les basophiles présents, provoque rougeur et chaleur, l'augmentation de la perméabilité

vasculaire agisse sur le système des kinines (Weill et al., 2003). Ces derniers vont induire la production de plusieurs médiateurs tels que le monoxyde d'azote (NO) et les eicosanoïdes qui sont responsables de la vasodilatation des capillaires sanguins (Felipe et al., 2007).

Ces médiateurs vont augmenter la contraction des cellules endothéliales, ce qui augmente ainsi la perméabilité capillaire et la formation de l'œdème, ce dernier provoque des hyperpressions au niveau des terminaisons nerveuses locales et la sensation de la douleur (Weill et al., 2003 ; Kumar et al., 2014).

I.1.2.2. Phase cellulaire

La phase cellulaire est caractérisée par la mobilisation et la migration des phagocytes circulatoires (neutrophiles, monocytes et macrophages) vers le site lésé, ainsi que la synthèse de médiateurs solubles tels que les protéines du système du complément, les protéines associées à l'inflammation et les cytokines. L'élimination des pathogènes est rendue possible par les neutrophiles et les macrophages, dont la fonction première est la phagocytose (Stramer et al., 2007).

I.1.2.3. Phase de résolution

L'élimination de l'agent pathogène est suivie d'une phase de résolution de la réponse inflammatoire en milieu physiologique. Divers mécanismes cellulaires et moléculaires sont activés au cours de cette phase afin de contrer le processus inflammatoire et de restaurer l'homéostasie et l'intégrité fonctionnelle des tissus (Barnig 2016). Tout au long du processus d'inflammation aiguë et résolutive, la cellule endothéliale joue le rôle de gardien, contrôlant le type de cellule qui pénètre dans le site de l'inflammation. Cellule endothéliale, leucocyte polymorphonucléaire, et macrophage (Jamieson et al., 2005)

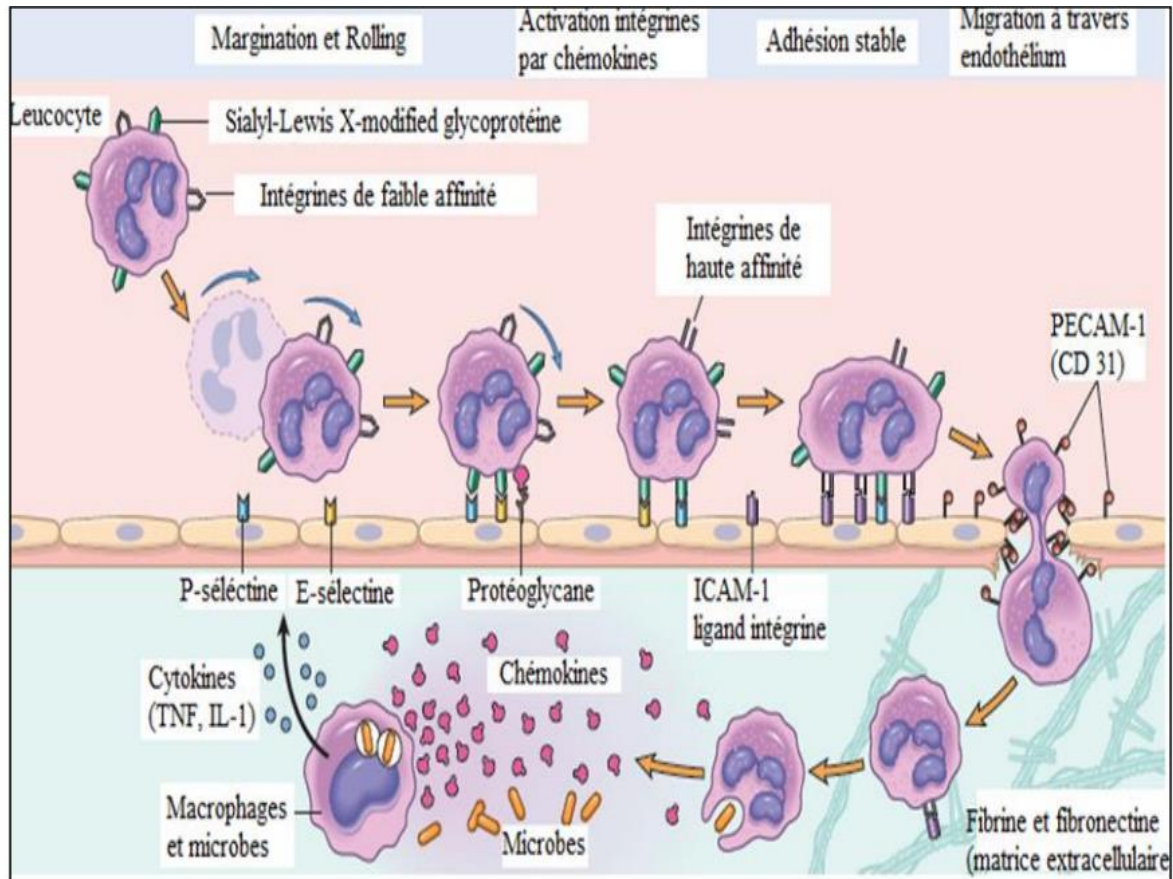


Figure 1 : Recrutement des leucocytes vers le site inflammatoire (Kumar et al., 2014).

I.2. Les principaux médiateurs de l'inflammation

I.2.1. Les médiateurs cellulaires

Plusieurs médiateurs, comme les pro-inflammatoires chimiques (Tableau1) et les anti-inflammatoires, contrôlent la réponse inflammatoire. Ces médiateurs peuvent être des composés plasmatiques qui circulent dans le sang ou des cellules telles que les mastocytes, les thrombocytes, les neutrophiles, les monocytes et les macrophages (Henrotin et al., 2001 ; Iwalewa et al., 2007). Les rôles de ces médiateurs sont résumés dans le tableau 1:

Tableau 1: Effets des principaux médiateurs impliqués dans le processus inflammatoire.

Médiateurs de l'inflammation	Rôles dans le processus inflammatoire	Références
Histamine	Responsable de l'augmentation de la perméabilité vasculaire, permet la contraction musculaire, provoque et induit la sensation de douleur	(Ryan et Majno, 1977 ; Mayol et al., 2013).
TNF- α et IL-1 β	Implique dans la migration des leucocytes vers le site enflammé par la stimulation des cellules endothéliales pour exprimer les molécules d'adhésion, stimule la libération des chimiokines, stimulent l'activation de la phospholipase A2, activent la production intracellulaire d'espèces réactives d'oxygène, stimulent l'expression des MMPs	(Levy et Kelly, 1993 ; KoechlinRamonatxo, 2006).
IL-6	Responsable de l'activation des phagocytes, favorise le recrutement des monocytes sanguins vers les tissus enflammés, induit la production de protéine de la phase aigüe (protéine Créative)	(Ostrowski et al., 1999 ; Mayol et al., 2013).

IL-8	Implique dans la chimio attractions des cellules (neutrophiles, mastocytes et les macrophages), favorisant leurs diapédèses, induit la libération d'enzymes lysosomiales, d'oxydant et de médiateurs lipidiques	(Henrotin et al., 2001 ; Mayol et al., 2013).
Prostaglandines	Inhibent la synthèse de cytokines activatrices des lymphocytes, puissants vasodilatateurs, participent à la formation de l'œdème et sont responsables de la douleur	(Henrotin et al., 2001 ; Iwalewa et al., 2007).
Leucotriènes	L'augmentation de la perméabilité vasculaire, participent dans la formation de l'œdème, possèdent des propriétés chimiotactiques, stimule la production de l'IL-2, de l'IFN- γ et de l'IL-4 par les lymphocytes T	(Henrotin et al., 2001).
Substance P	Stimule la prolifération des lymphocytes et la production d'immunoglobulines, favorise la sécrétion des cytokines de l'inflammation, libération des radicaux oxygénés, les dérivés de l'acide arachidonique et de	(Henrotin et al., 2001 ; O'Connor et al., 2004).

	l'histamine, stimule le chimiotactisme	
Métalloprotéases	La modification de la matrice extracellulaire en dégradant ses composants, facilitent la migration des cellules immunitaires vers le site inflammatoire	(Manicone et McGuire, 2008 ; Mayol et al., 2013).
IL-4, IL-10 et IL-12	Inhibent la libération de TNF- α et d'IL-1 β , réduisent le nombre des polymorphonucléaires dans le tissu enflammé, stimulent la libération du TGF- β 1	(Marsolais et Frenette, 2005 ; Charles, 2010).

I.2.2. Le radical superoxyde, O₂

L'inflammation est considérée comme une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées, au cours de la phagocytose. (Henrotin et al., 2001 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Barton, 2008).

L'anion superoxyde est une ERO primaire, formée par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire.

Durant l'inflammation, les PMNs augmentent leur consommation en oxygène pour aboutir à la formation des ROS. Toutefois, cette formation comporte une série d'étapes en cascade qui implique initialement l'activation de la NADPH-oxydase (Figure 2) qui active la production de l'O₂.- (Serteyn, 2003 ; Hurtado-Nedelec et al., 2014).

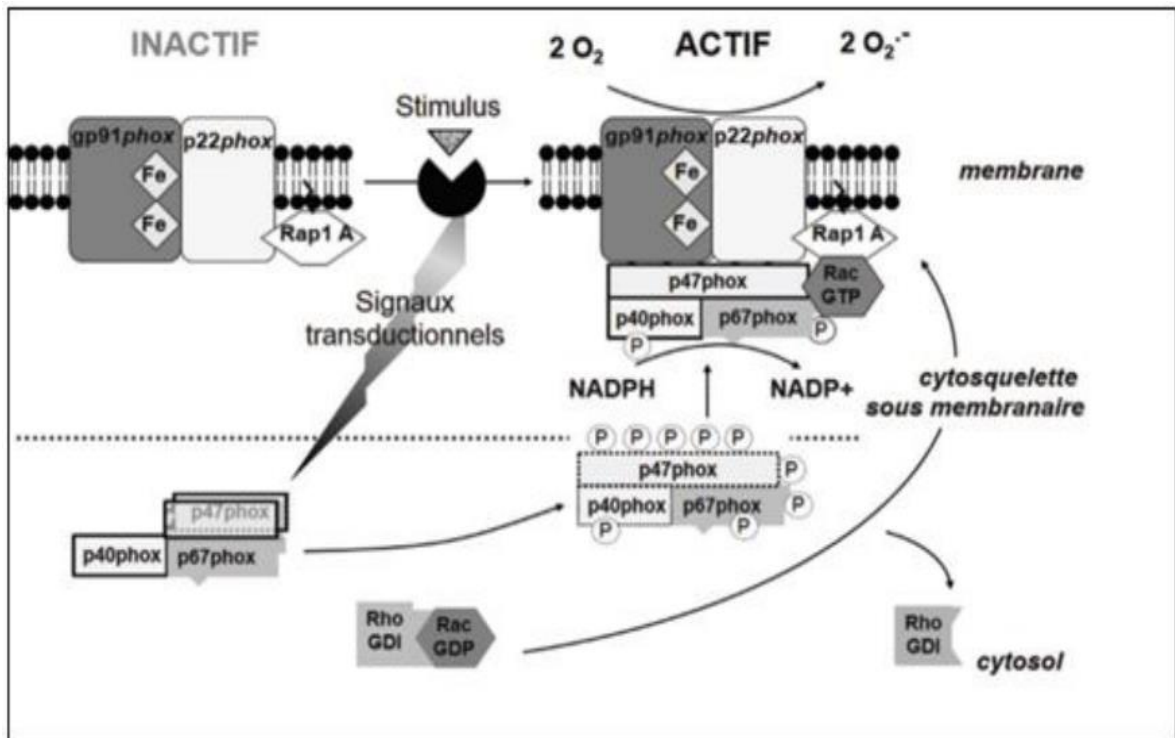


Figure 2 : Activation de la NADPH oxydase (Hurtado-Nedeleca et al., 2014).

Il réagit immédiatement sur lui-même ou avec d'autres radicaux pour former d'autres ROS (Figure 3) plus puissants comme le H₂O₂ et le OH•. Dans le milieu inflammatoire, d'autres réactions entre les différents ROS et leur environnement donnent naissance à d'autres composés toxiques plus puissants. (Pasquier, 1995).

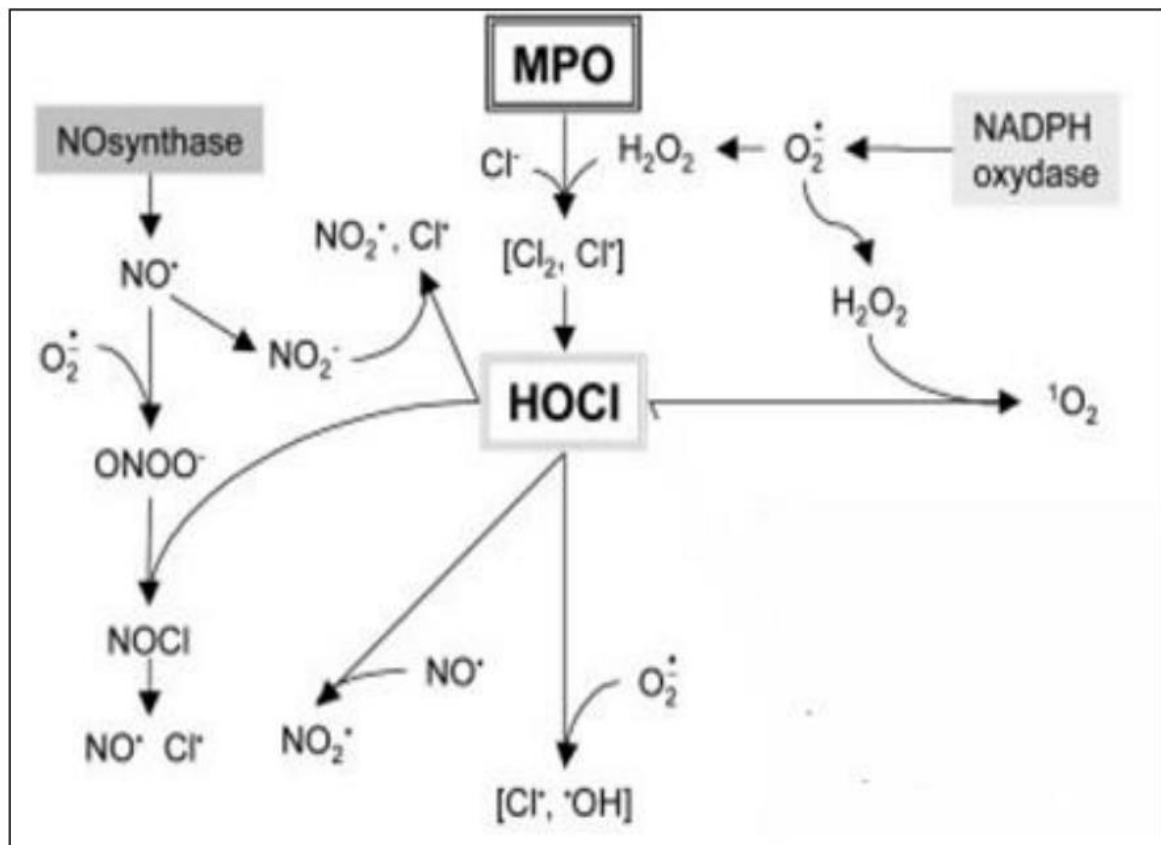


Figure 3 : Productions des espèces réactives dans les neutrophiles (Serteyn, 2003)

I.3. Les anti-inflammatoires

I.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) regroupent un ensemble de molécules présentant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Leur efficacité comme leurs principaux effets secondaires sont liés à leurs mécanismes d'action principal qui est l'inhibition des cyclo-oxygénases, enzymes responsables de la synthèse des prostaglandines et du thromboxane. (Orliaguet et al,2013).

Les AINS ont également un rôle dans la capture des radicaux libres produits pendant l'inflammation ce qui permet de réduire les phénomènes inflammatoire (Lefebvre, 2014).

I.3.1.1. Mode d'action

L'action principale des AINS passe par l'inhibition des cyclo-oxygénases (COX), La plupart des cellules, incluant les chondrocytes et synoviocytes, contiennent de l'acide

arachidonique, acide gras constitutif des phospholipides. Une fois libérée, l'acide arachidonique est oxydé par une cyclo-oxygénase en prostaglandines ou par une lipoxygénase en leucotriènes.

Les AINS bloquent la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (figure4). Ils bloquent également la synthèse de thromboxane A2 entraînant une diminution de la production tissulaire des prostaglandines vasodilatatrices, pro-inflammatoires et pyrogènes (Lefebvre, 2014).

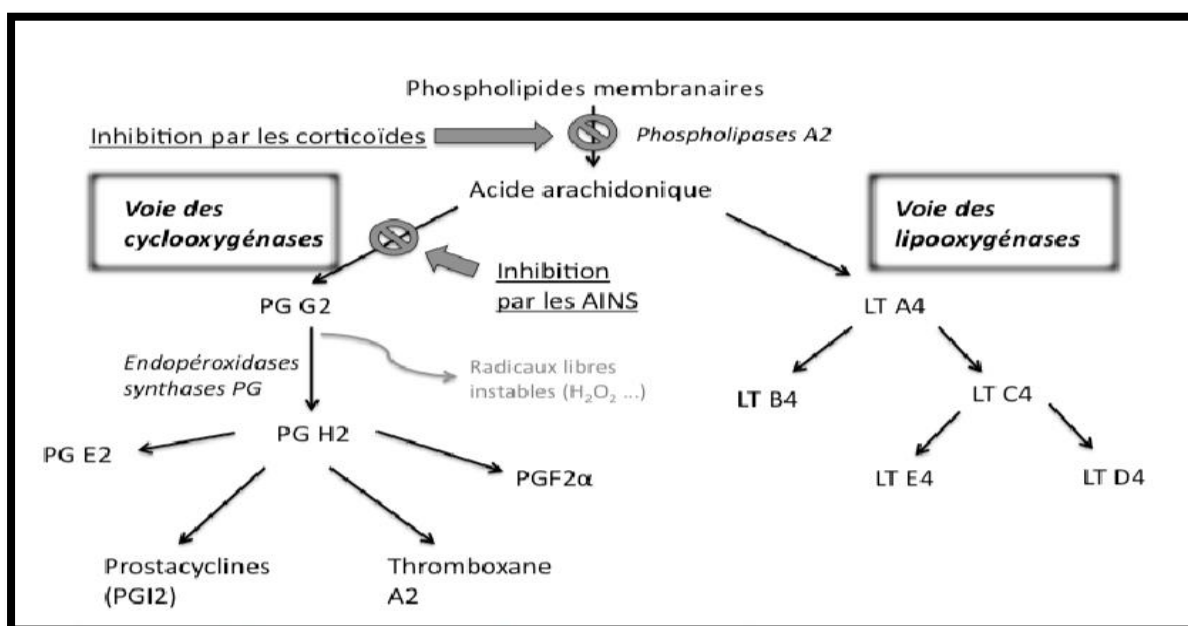


Figure 4 : Mécanisme d'action des AINS au sein de la cascade inflammatoire (Lefebvre,2014)

I.3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes (Mouffouk, 2019).

I.3.2.1. Mode d'action

Les glucocorticoïdes ont, à l'image des AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines qui s'exerce spécifiquement sur la phospholipase A₂, au début du métabolisme de l'acide arachidonique (figure5). Ils ont une action à la fois cytoplasmique et génomique (Ibrahima, 2019).

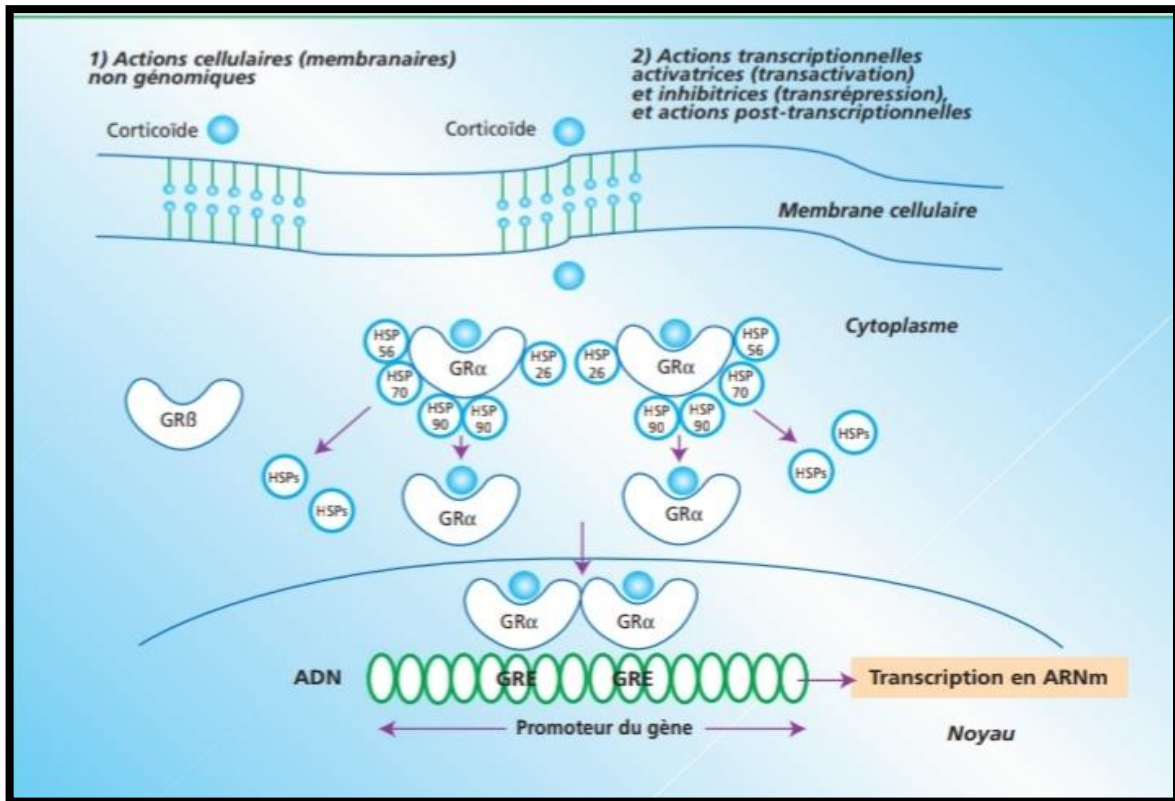


Figure 5 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Sibilia, 2003).

I.3.3. Les anti-inflammatoires naturels

La phytothérapie est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle. Le nombre de composés phytochimiques présents dans les plantes médicinales est énorme, et leur domaine d'activité est bien plus vaste (Barnes, 1998). Les plantes médicinales et leurs métabolites sont connues par leur activité anti-inflammatoire. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau 2 :

Tableau 2: Quelques plantes à effets anti-inflammatoire.

Plantes	Parties utilisées	Activités	Références
Green Tea	Catéchine, acide gallique	Stabilisation de la membrane d'érythrocytes en inhibant la peroxydation lipidique	(Ma et al., 2000).
Tripterygium wilfordii Hook F	Racines	Anti-inflammatoire et anti rhumatisme	(Chou, 1997).
Oxalis corniculata Linn. (Oxalidaceae)	Plante entière	Anti-oxydant et anti-inflammatoire	(Sakat et al., 2010).
Cuminum cyminum L. (Apiacées)	Graines	Anti-oxydant	(Athamena et al., 2010).
Cedrus deodara (Pinacea)	Huile essentielle	Anti-inflammatoire et anti-rhumatisme	(Shinde et al., 1999).
Plumbago zeylanica (Plumbaginaeaceae)	Racines	Ulcères, fièvre, antioxydant et anti-inflammatoire	(Raimi et Oyedapo, 2009).

Chapitre II

Stress oxydatif et le pouvoir antioxydant

II.1. Généralités sur le stress oxydant

II.1.1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre le système pro-oxydants et antioxydants. Ce qui implique l'apparition de diverses maladies : tel le cancer, les maladies cardiovasculaire, maladie inflammatoire, et le processus du vieillissement. (**Atamer,2008**).

Les antioxydants sont des substances naturelles produites soit par l'organisme ou bien apportés par l'alimentation qui stop les dégâts oxydatifs (**Halliwell et al., 2008**).

II.1.2. Antioxydants

Considérée comme antioxydant une molécule qui, étant présente en une faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive.

Afin de de combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant qui est à l'origine de la plupart des maladies. L'organisme a recours aux antioxydants qui sont des molécules naturellement produites par le corps (**Halliwell et al, 2008**).

II.1.3. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des substances chimiques très réactives comportant un nombre impair d'électrons. Ils causent un désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires et des acides nucléiques. Ces radicaux peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire (apoptose) et des maladies telles que : les maladies cardiaques, le cancer (**Pincemail et al., 1999**) et la maladie d'Alzheimer.

L'appellation espèces réactives de l'oxygène (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène (Anion super oxyde ($O_2^{\circ-}$), radical hydroxyle ($OH^{\circ-}$)) et certains dérivés oxydés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Badeau 2006**). Ces espèces sont formées de manière continue dans l'organisme sain, plus exactement par fuite d'électrons à partir de la chaîne respiratoire.

II.2. Pro-oxydants

Le terme « antioxydant » fait partie de notre quotidien à travers notre alimentation. Il est devenu un argument de vente pour la plupart des aliments et de compléments alimentaires. D'après les scientifiques les antioxydants permettent de prévenir de plusieurs maladies types dyslipidémie, diabète (16).

Un antioxydant est une molécule ayant un pouvoir de ralentir et prévenir l'oxydation des autres molécules. L'effet antioxydant est semblable de celui de l'activité anti-inflammatoire.

II.2.1. Espèces Réactives de l'Oxygène

Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) sont souvent associées aux radicaux libres (Defraigne et al., 2018). Le terme de radical libre renvoie à n'importe quelle espèce capable d'une existence indépendante (d'où le terme de libre) contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Un électron non apparié est un électron qui occupe seul, une orbitale atomique ou moléculaire. L'exemple le plus simple de radical libre est l'hydrogène qui possède un seul électron non apparié sur sa couche orbitale externe. Ainsi, si les radicaux libres ne sont pas forcément associés à des espèces dérivant de l'oxygène, la notion de réactivité n'est pas forcément relative aux radicaux.

La forme stable de dioxygène que nous connaissons, dite triplet, est un biradical libre possédant deux électrons non appariés avec des spins parallèles. Sous cette forme, le dioxygène est un puissant agent oxydant. Cependant, en vertu des règles de restriction de spin de Wigner, et du fait de sa structure électronique, l'oxygène fondamental possède une forte inertie vis-à-vis des molécules biologiques, pour la plupart non radicalaires. Sa réactivité est limitée aux molécules capables d'apporter un ou deux électrons non appariés, et dont le spin est antiparallèle aux siens.

La réactivité des espèces chimiques qui dérivent de ce dioxygène est, elle aussi, relative. En effet, l'anion super oxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont très sélectifs dans leurs réactions avec les molécules biologiques et ne vont, par exemple, interagir qu'avec quelques enzymes. Au contraire, le radical hydroxyle ($\cdot OH$) réagit avec toutes les molécules présentes à proximité.

II.2.2. Sources des pro-oxydants

Il existe de nombreuses sources cellulaires d'ERO, localisées à divers endroits de la cellule (Defraigne et al., 2018). Les trois sources principales sont les chaînes de transport d'électrons des chloroplastes et mitochondries, et certaines enzymes comme les peroxydases et oxydases.

II.2.2.1. Sources non-enzymatiques

Le chloroplaste est souvent considéré comme étant la principale source d'ERO chez les organismes photosynthétiques (Defraigne et al., 2018). Le processus photosynthétique est à l'origine de la formation directe d' 1O_2 et d' $O_2^{\cdot-}$ et indirecte d' H_2O_2 (par dis mutation de l' $O_2^{\cdot-}$ et d' $^{\cdot}OH$). Il y a encore peu de temps, le photosystème I (PSI) était considéré comme la source principale des ERO chloroplastiques. Dans des conditions physiologiques normales, le flux d'électrons du PSI est dirigé vers le NADP qui est réduit en NADPH par la ferrédoxine NADP réductase (FNR). Lors d'un stress (par exemple, une luminosité trop importante), la chaîne d'électrons peut se saturer.

Les mitochondries constituent une source importante d'ERO chez les plantes. Néanmoins, chez ces dernières, la part de la production d'ERO due aux mitochondries, est variable en fonction de l'organe considéré et des conditions du milieu (en particulier l'ensoleillement). Ainsi, elles constituent la source principale d'ERO dans les cellules non-chlorophylliennes, alors qu'elles ne représentent qu'une faible part dans les cellules chlorophylliennes exposées à la lumière. Les mitochondries des végétaux diffèrent de leurs homologues animales par une chaîne de transport d'électrons différents, et des fonctions supplémentaires comme la participation au cycle de la photo respiration. De plus, les mitochondries des cellules photosynthétiques évoluent dans un environnement particulier, riche en oxygène et en carbohydrates.

De même, Les peroxyosomes possèdent une structure simple, une taille réduite et une très grande quantité de catalases. En raison de ces caractéristiques, les peroxyosomes ont longtemps été considérés comme des organites spécialisés dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène. Les peroxyosomes sont en fait le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif (Defraigne et al., 2018). Ils possèdent de nombreux systèmes antioxydants et pro oxydants. Les deux principales sources d'ERO peroxyosomales sont la β -oxydation des acides gras et la photo respiration.

II.2.2.2. Principale source enzymatique NADPH oxydase

En particulier celles associées aux macrophages, sont les principales sources d'ERO à l'origine de cette flambée oxydative. Les NADPH oxydases (Nox) interviennent dans la régulation de nombreux processus physiologiques fondamentaux tels que la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose et le remodelage du cytosquelette. L'utilisation de diphénylèneiodonium (DPI), un inhibiteur pharmacologique de la NOX, permis de mettre en évidence son implication dans la flambée oxydative induite lors d'une infection par des pathogènes.

II.3. Les anti-oxydants non enzymatique**II.3.1. Principale source non enzymatique****II.3.1.1. L'acide L ascorbique (ASC)**

Est un des principaux acides faibles qui dans la cellule se dissocie en anion ascorbate. L'ascorbate est essentiellement utilisé au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons. Le premier produit de la réaction d'oxydation de l'ascorbate est le radical monodéhydroascorbate. Du fait de son électron libre très excentré, le MDHA n'est pas très réactif avec les autres molécules biologiques. (Nyathi et al.,2020).

II.3.1.2. Le glutathion

Est un thiol très abondant se retrouvant de façon ubiquitaire chez les plantes, les animaux et les végétaux (Doukhi B et all.,2020). Il est impliqué dans l'inactivation des ERO, ainsi que dans la régénération de certains composés aux propriétés antioxydantes, comme la vitamine E. Il possède deux formes redox distinctes. La forme réduite (GSH) est un tri peptide (γ -Glu-Cys-Gly), stable, à fort pouvoir réducteur et très soluble dans l'eau. Toutes ces caractéristiques en font un donneur d'électrons adéquat dans les réactions physiologiques. L'oxydation du glutathion entraîne la formation d'un pont disulfure entre les cystéines de deux GSH. Cette forme oxydée du glutathion est appelée GSSG.

II.3.1.3. La vitamine E

Comme la vitamine C, est un antioxydant très efficace du fait de sa faible propension à être un donneur d'électrons. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes d'hydrogène (Lopez G Vet all., 2010) Cet antioxydant est considéré comme étant le plus important chez les animaux et les humains. Toutefois, l'a-tocophérol est un piègeur d'oxygène singulet et de radical hydroxyle. C'est l'antioxydant le plus important dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires. Par ailleurs, il peut réduire les

peroxydes lipidiques et bloquer la réaction en chaîne de peroxydation lipidique s'initiant après la peroxydation d'acides gras polyinsaturés. La vitamine E est donc un antioxydant clé dans la protection de l'intégrité des membranes. Il protège également les pigments photosynthétiques, participant ainsi à la protection de l'appareil photosynthétique chez les plantes.

II.3.1.4. Les polyphénols

L'efficacité antioxydante des poly phénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre (Duthie et al., 2003). Les polyphénols sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes. Les composés flavonoïdes sont regroupés en diverses familles flavonols, flavanols, flavones, isoflavones, flavanones et anthocyanes.

Les non flavonoïdes sont divisés en acides phénols et dérivés, lignanes et stilbènes (Stevensen et al., 2007).

II.3.1.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes préviennent l'oxydation des lipides et l'athérosclérose.



Ils agissent principalement comme piègeurs de radicaux libres tels que le DPPH, le peroxyde et le peroxydinitrite, ou encore comme chélateurs de métaux (Nijveldt et al., 2001)

II.3.1.6. Tannins

Les tannins sont révélés très efficaces pour réduire les ions métalliques et empêcher la peroxydation des lipides dans les microsomes et les mitochondries du foie. Ils sont également dotés d'une activité scavenger du radical DPPH[°] et de l'anion super oxyde (Okuda 2005).

Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations. Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects in vivo. Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...), ce qui leur assure des effets anti

thermogéniques, anti-inflammatoires, anti thrombotiques, anti cancérigènes (**Stevenson et al., 2007**).

II.3.1.7. Les caroténoïdes

Sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules (**Sylvestre Koffi Tanoh et al., 2019**). Ils jouent le rôle de pigments accessoires de l'antenne collectrice des photosystèmes. En dehors de cette implication dans le processus photosynthétique, les caroténoïdes associés au PSII ou à l'antenne collectrice, participent à la protection de l'appareil photosynthétique contre les ERO. En effet, ces pigments possèdent la capacité de capter l'énergie de la chlorophylle triplet ou de l'oxygène singlet, ce qui les convertit en état triplet. La capacité de transfert d'énergie des caroténoïdes vers le dioxygène étant faible, ces pigments retrouvent leurs états initiaux en perdant leurs énergies sous forme de chaleur.

II.3.2. Principaux anti-oxydants enzymatiques

En plus des différentes molécules anti oxydantes, les cellules possèdent de nombreuses voies de dégradation enzymatique des ERO. Certaines enzymes n'utilisent pas de co-substrat pour réduire les ERO. Au contraire, d'autres utilisent plusieurs co-substrats dont certains antioxydants que nous venons de voir (ASC, GSH).

II.3.2.1. Les super oxyde dismutases (EC 1.15.1.1)

Sont des métallo-enzymes se retrouvant dans l'ensemble du monde du vivant, mis à part dans quelques microorganismes. Les plantes possèdent trois types de SOD contenant des groupements prosthétiques renfermant des métaux différents : du fer (FeSOD), du manganèse (MnSOD) ou du cuivre et du zinc (CuZnSOD).

II.3.2.2. Les catalases (EC 1.11.1.6)

Sont des enzymes majoritairement paroxysmales catalysant la dis mutation du peroxyde d'hydrogène (**Arora et al., 2002**). Elles sont formées de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un groupe hémique comprenant un atome de fer. Pour catalyser la réaction, l'atome de fer réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène, créant de ce fait une molécule d'eau et un groupement Fe(IV)=O hautement oxydant.

II.3.2.3. Les peroxydases (POX) (EC 1.11.1 .x)

Sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons. Pour la majorité de ces enzymes, le substrat optimal est le peroxyde d'hydrogène, mais elles peuvent facilement réduire des hydro peroxydes organiques ou des peroxydes lipidiques.

Chapitre III

Plantes à potentiels antioxydant et anti- inflammatoire

III.1. Les plantes à potentiels antioxydant et anti-inflammatoire

Ils existent plusieurs plantes à potentiels antioxydant et anti-inflammatoire, parmi ces plantes on cite quelques exemples dans le tableau 3 :

Tableau 3: Plantes à potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Plantes	Extrait	Taux des polyphénols		Activité antioxydants <i>in vitro</i> (IC50 ou %)	REF		
		Polyphénols totaux (mg GAE/g)	Flavonoïdes (mg QE/g)	Inhibition du Radical DPPH ou du radical NO	Dénaturation des protéines	Traitements	
<i>Paronchia argentia</i>	Aqueux Méthanol	525,79 ± 0,79	194,19 ± 8,62	5,3 ± 0,03 µg/mL	769 ± 37 µg/mL 29 ± 4 µg/mL	Paronychia argentea peut servir comme un traitement naturel antioxydant et antiinflammatoire pour la colite ulcéreuse.	(Adjaj Moufida 2018).
Sedum sediform	Aqueux Méthanol	Très élevé	Très élevé	IC50 de 0.170 ± 0.001 mg/ml et 0.063 ± 0.005 mg/ml	Nd	Efficace dans le soin des aphtes, le traitement des brûlures, la prévention des hémorragie.	(Trabsa Hayat 2018).
<i>Allium sativum</i> (Bulbes)	Aqueux Méthanol	nd	nd	50-75 µg/mL >100 µg/mL	>100 µg/mL 100 µg/mL	Activité anti-infectieuse.	(Moualek, I., et al 2016).

<i>Arbutus unedo</i> (Feuilles)	Aqueux	207 ± 15	13 ± 0.09	7.95 ± 0.28 µg/mL	300 µg/mL	Tonique digestif et antispasmodique intestinale.	(Medjour, w., et al 2017)
<i>Myrtus nivellei</i>	Ethanol 70%	119,65±9,10µgEAG/mg MS	(41,88 ±1,91 µg EQ/mg MS)	24.79±1.03 µg/ml		Efficace dans le traitement de l'insuffisance respiratoire.	(Lebouazid, et al 2021)
<i>bunium mauritanicum</i>	méthanol	76.79 ± 9.039 µg EAG/mg	123.80 ± 1.99 µg EQ/mg	un IC50 de 19.36 mg/ml	Pourcentage d'inhibition de 40.11%	Le traitement du dysfonctionnement thyroïdien (hypothyroïdie).	(BOUDJOU REF, Mourad. 2020).
<i>Artemisia campestris</i>	Aqueux	74.75± 0,01et 88.61± 0,22mg EAG / g	18,37± 0,01à 217,75± 0,01mg EQ / g	(CI50=131,19 ± 18,81µg/mL)	/	Stimulation du flux sanguin. Lutte contre le paludisme et certaines formes de cancer.	(Kherbache, abdellah 2018).
<i>Anacyclus clavatus</i>	aqueux (E.Aq)	Riche	Riche	IC50 de 28,30 ± 3,45 µg/ml et 68,98 ± 1,64 µg/ml respectivement.	76 % et 75 % respectivement.	Traitement des problèmes digestifs	(Habouche, H.Mimoune, S2019).
<i>Matricaria pubescens</i>	Ethanol 70%	120,65±9,10µgEAG/mg MS	19,65±9,10µgEAG/mg MS	IC50 de 99.861 ± 2.364 Est 16.415 ± 2.461	67.038 ± 1.36, 58.038 ± 2.551et 72.435 ± 1.022.	Stress, l'anxiété	(Aiteur, K., et al 2017).

<i>Nigella sativa L</i>	méthanol	33,86±0,297m gEAG/g	2,60±0,046 mgEQ/g		Efficacité inhibitrice	Soulagement des différents problèmes de peau.	(Bysani Jagannatha Divya., et al 2019).
<i>Mucuna pruriens</i> (Feuilles)	Aqueux Méthanol	nd	nd	50-75 µg/mL 50-75 µg/mL	50 µg/MI 75 µg/mL	Traitement de l'anémie	(Giséle,E.G ay,P.2018).
<i>Phragmanthera capitata</i>	Aqueux	2570 mg EAA/g ES)	nd	nd	0,049 mg/ml	Hypertension	'Bouchebah ,souhila.201 5).
<i>Inula viscosa</i> (feuilles)	Aqueux	Tres élevé	Trés élevé	ces extraits possèdent un pouvoir réducteur (Fe ²⁺ , Mo (V)	Nd	L'effet anti hypertenseur	(Anoop, M. V., et al 2015).
<i>Syzygium zeylanicum</i> (Feuilles)	Aqueux	40.41	nd	50 mg/ml	250mg/ml	Nd	(Varghese, C., et al 2013).
<i>Eurycoma longifolia</i> (racines)	Ethanol 70%	nd	nd	100-250 µg/mL	nd	Nd	(Govindapp a, M., et al 2011).
<i>Severina buxifolia</i>	Aqueux methanol	0,63±0,05 1,92±0,09	5,95±0,10 13,36±0,34	94±9 µg/MI 17±3µg/mL	769±37 µg/mL 29±4 µg/mL	Traiter la malaria	(Govindapp a, M., et al 2011).
<i>Crotalaria pallida</i>	Aqueux	266.54 ± 16	nd	0,02 mg/ml	59,43% (0.1ml ext)	Nd	(Ehsan, O., et al 2011).
<i>Wedelia trilobata</i> Leaf Stem Flower	Ethanol 70%	9.41±0.03 6.71±0.07	nd nd	86.17%. (0,1mg/ml)	87.14% (0,1mg/ml) 86.76% (0,1mg/ml)	Expulser le placenta. Calmer les douleurs de règles.	(Alhakmani , F., et al 2013).

		4.88±0.07	nd	82.64% (0,1mg/ml)	61.63% (0,1mg/ml)		
				55.41% (0,1mg/ml)			
<i>Jatropha curcas</i>				6.8±2.71 µg/ml			
Leaf	Methanol8	38.8±2.14	1.4±0.12	> 200 µg/ml		Problème de peau	(Moualek, I., et al 2016).
Stem	0%	6.1±0.16	0.1±0.01	57.9±8.13			
Root		8.0±0.15	1.1±0.10	µg/ml			
flowers of <i>Moringa oleifera</i>	Ethanol 70%	19.31±1.79	nd	>200 µg/ml	≈100	Calculs rénaux douleurs articulaire .	(Dieu-Hien Truong., et al 2019).

III.2. Cas de la verveine (*Verbena officinalis*)

La verveine « *Verbena officinalis* » une appellation qui a été attribué au premier siècle après J-C. originaire de l'Amérique du sud spontanés en Afrique du nord, la chine et au japon. Cultivé au printemps et même en automne nécessite des sols drainé et ensoleillés.

C'est une plante verte vivace, annuelle peut atteindre 2m de hauteur, un peu poilue scabridule a racine fusiforme, ainsi aux tiges velues, canaliculées alternativement sur deux faces opposées, les feuilles sont opposées, celles du bas sont pétiolées, ovales ou oblongues en coin, incisés-dentées. **(Achiri et al., 2018).**

Les botanistes révèlent une variété de noms y compris « *Aloysia triphylla* » illustré dans le tableau 4 :

Tableau 4: Classification botanique la verveine (*verbena officinalis*).

Regne	Plantea
Super-division	Embryonphyta
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Superordre	Asteranae
Famille	Verbenaceae
Genre	Verbena
Espece	Verbena officinalis

Depuis des siècles, la verveine fut un remède universel une plante magique selon les romains en raison de propriétés importantes qui sont une source inépuisable des composés bioactifs tels que les composés phénolique et antioxydants naturels qui peuvent être exploités dans l'industrie pharmaceutiques (Achira et al., 2018).

Chapitre IV
Matériels et méthodes

Le travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de biochimie (FSNV) de l'université Abderrahmane-Mira de Bejaia. Le but est d'évaluer les potentiels antioxydants et anti-inflammatoire des extraits aqueux des feuilles de *Verena officinals* acheté chez un herboriste de la ville de Bejaia.

IV.1. Obtention des extraits aqueux de *Verbena officinalis*

Une fois récupérées, les feuilles de *Verveine officinale* (figure 6) ont été mis à sécher dans une étuve aérée réglée à 40°C pendant 24h afin d'éliminer toute trace d'eau résiduelle, puis broyer pour avoir une poudre plus ou moins fine et homogène. La poudre ainsi préparée est ensuite conservée dans un bocal hermétiquement fermé à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.



Figure 6 : Photographie des feuilles de *verbena officinalis* sec (originale).

L'extraction a été réalisée à l'eau par méthode de décoction. On mélange la poudre de plante avec un volume d'eau préalablement chauffée à raison d'un rapport m/V, avec un rapport 12/100 pour (extraction E1) et 24/100 pour (extraction E2), Les suspensions sont ensuite portées à ébullition, sur une plaque chauffante réglée à 100 °C pendant 10 mn, 20 mn et 30mn. Les extraits ainsi obtenus sont laissés refroidir puis sont filtrés sur papier filtre wattman à porosités fines. 6 extraits aqueux sont ainsi obtenus E1₁₀, E1₂₀, E1₃₀, E2₁₀, E2₂₀ et E2₃₀.

IV.2. Dosage des polyphénols

IV.2.1. Principe de la méthode

La teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles de la verveine *Verbena officinalis* est déterminée selon la méthode de **Kannat., et al (2007)**. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin du mélange phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

IV.2.2. Mode opératoire

Pratiquement, pour un volume de 0.1 ml de la solution d'extrait, 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) sont ajoutés. Après 4 min, 0.4 ml de la solution de carbonate de sodium (7.5%) sont additionnés. Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 90 min et la DO est mesuré à 765 nm. L'acide gallique (0-120 $\mu\text{g/ml}$) est le standard utilisé pour établir la droite d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux de l'extrait est calculée. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EqAG/mg}$ d'extrait).

IV.3. Dosage des flavonoïdes

IV.3.1. Principe de la méthode

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres après chélation des métaux (Fe^{+2} , Al^{+3}). Ces métaux perdent ensuite deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique. La couleur jaune produite possède une absorbance maximale à 430 nm, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait.

IV.3.2. Mode opératoire

A température ambiante, 1 ml de la solution d'extrait est ajouté à 1ml de la solution d' $AlCl_3$ (2%). Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm. La quercétine (0-100 $\mu\text{g/ml}$) est le standard utilisé pour établir

la droite d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des flavonoïdes totaux des extraits est calculée. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

IV.4. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH

IV.4.1. Principe

En prenant des mesures de la diminution de l'absorbance à 517nm provoqué par la présence de l'extrait. Le DPPH est initialement violet, lorsqu'il lie un proton, il se décolore. Cette décoloration nous révèle sa capacité à piéger les radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique (**Helbaoui, 2007**).

Le test est répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition selon la loi suivante :

IV.4.2. Mode opératoire

1, 3 ml d'une solution du DPPH (2mg solubilisé dans 50ml éthanol) sont mélangés à différents volumes d'extraits (15 μl à 100 μl), le volume est complété à 1,2ml avec de l'eau distillée. On laisse incuber pendant quelques minutes à l'abri de la lumière puis on mesure la DO à 517nm. L'essai est réalisé en triplicata.

Le pourcentage de l'activité SCA vis-à-vis du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = \frac{[(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100}{1}$$

IV.5. Mesure du Pouvoir réducteur

IV.5.1. Principe

Le pouvoir réducteur est un mécanisme important pour examiner l'activité anti-oxydante des composés phénoliques. Cette méthode est basée essentiellement sur la réduction du fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe de ferricyanure ($\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Wojdylo et al., 2007**).

IV.5.2. Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits a été évalué selon la méthode de **Oyaizu, (1986)** avec quelques modifications. 1ml de l'extrait de plante a été mélangé à 1ml de potassium

hexacyanoferrate (1%, w) et 1 ml de tampon phosphate (0,2 M à pH 6,6) puis incubés à 50°C pendant 20 minutes. 1ml de TCA (10%) ont été immédiatement ajouté et le mélange a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un volume de 1.5 ml de surnageant a été ensuite mélangé avec 1.5 ml d'eau distillé et 150µl de FeCl₃ (0.1%). Le mélange a été agité au vortex et l'absorbance a été enregistrée à 700 nm.

IV.6. Evaluation du potentiel anti-inflammatoire *in vitro*

IV.6.1. Extraction de l'ovalbumine

L'extraction de d'ovalbumine a été réalisée suivant le protocole de **Glwadys et Lionnel (2001)**. Après lavage et nettoyage des œufs (frais) achetés dans le commerce, les œufs sont cassés avec précaution et le blanc est ainsi récupéré dans un bécher qui se trouve dans un bain de glace ; en s'assurant d'enlever les chalazes, la mesure du pH de l'album se fait immédiatement à l'aide d'un pH mètre (HANNA instrument pH211 Micro processor).

Le volume de blanc d'œuf a été mesuré à l'aide d'une éprouvette son pH 7,9 a été ajusté avec de l'eau distillé. Une douce agitation pendant 10 min est effectuée sur l'échantillon, on homogénéise sous agitation magnétique, puis on réalise une filtration sur bande à gaz et on termine par une centrifugation à 2000rpm pendant 20 min dans une centrifugeuse réfrigérée (4 °C).

IV.7. Mise au point du test de dénaturation thermique de l'ovalbumine

IV.7.1. Traitement thermique de la solution d'ovalbumine partiellement purifiée

Différents barèmes du traitement thermiques des protéines du blanc d'œuf constituées majoritairement d'ovalbumine ont été réalisées. Les différents barèmes sont indiqués dans le tableau 5 :

Tableau 5: Tableau représente les différents barèmes du traitement thermiques du blanc d'œuf

Température (c°)	Temps (10min)	Temps (20min)	Temps (30min)
56°	T1	T1	T1
	T2	T2	T2
	T3	T3	T3
60°	T4	T4	T4
	T5	T5	T5
	T6	T6	T6
75°	T7	T7	T7
	T8	T8	T8
	T9	T9	T9
80°	T10	T10	T10
	T11	T11	T11
	T12	T12	T12
83°	T13	T13	T13
	T14	T14	T14
	T15	T15	T15
85°	T16	T16	T16
	T17	T17	T17
	T18	T18	T18
90°	T19	T19	T19
	T20	T20	T20
	T21	T21	T21

Après traitement thermique dans un bain marie thermostat (Mamert) sous agitation continue, les tubes contenant 6ml du blanc d'œuf dilué a 1/10, 1/20 ,1/30 avec l'eau distillée, pH 7,9 sont immédiatement plongés dans un bain de glace pendant 1 min afin d'arrêter le processus de dénaturation.

Les analyses citées ci-dessous sont réalisés pour chaque tube. Les mesures de turbidités sont réalisées immédiatement après le traitement et après 24h de conservation à froid 4C°

IV.7.2. Estimation de taux de dénaturation thermique des protéines

Elle consiste à mesurer la transmittance à 650 nm du blanc d'œuf traité et non traité, dans le but de mener la turbidité à zéro qui correspond à une transmittance de 100%. (Van der planckien et al., 2006).

IV.8. Evaluation de l'effet d'extrait aqueux sur la stabilité thermique de l'ovalbumine

L'objectif de ce test est bien de déterminer si l'extrait aqueux de la verveine officinale obtenu par décoction a un pouvoir inhibiteur ou stimulateur de la dénaturation thermique de l'ovalbumine.

Trois dilutions différentes des 6 extraits E1 et E2 ont été testés : 1/10, 1/20, 1/30. Le résultat le plus satisfaisant a été obtenu pour la dilution 1/20.

5ml de solution d'ovalbumine diluée au 1/20 sont mélangés à différents volume d'extrait aqueux de la verveine (100 μ l – 500 μ l) et le volume total est ajusté a 5,5ml avec de l'eau distillée. On a laissé incuber dans un bain marie à une température de 85C° durant 30 min puis on mesure la turbidité à 660nm.

IV.9. Analyse statistique

Toutes les expérimentations (turbidité, densité, dosages des polyphénols totaux, flavonoïdes, pouvoir réducteur et solubilité et des complexes protéines polyphénols) réalisés dans le présent travail ont été répétés trois fois, les moyennes sont ensuite calculées par la fonction statistique d'EXCEL de Ms office 97.

Chapitre V
Résultats et discussions

V.1. Taux d'extraction

La préparation de l'extrait, à partir de la verveine officinale, a été réalisée à l'eau distillée par méthode de décoction en utilisant l'eau en utilisant deux rapports m/v et en appliquant 3 temps de contact entre la matrice végétale et le solvant (eau). 6 extraits aqueux ont été obtenus avec des rendements qui varient de 6 à 36%.

Tableau 6: Taux d'extraction

Extraits	E1 ₁₀	E1 ₂₀	E1 ₃₀	E2 ₁₀	E2 ₂₀	E2 ₃₀
Rapport m/v en g/ml	12	12	12	24	24	24
Temps de contact à 100°C (Mn)	10	20	30	10	20	30
Rendement en %	6,06%,	9,09%	18,18%	12,12%,	18,18%	36,36%

Selon les résultats obtenus, on déduit que les rendements obtenus sont affectés aussi bien par le temps de contact entre la matrice végétale et le solvant ainsi que par le rapport masse de la poudre végétale/ volume du solvant.

De plus Plusieurs études ont démontré que les extraits de verveine officinale dans le solvant éthanolique sont plus riches en composés phénoliques et présentent des activités antioxydants plus fortes que les extraits aqueux c'est à dire ces derniers sont moins puissant (*Hanane Fallen et al.,2021*).

V.2. Taux des polyphénols et flavonoïdes

Les polyphénols et les flavonoïdes constituent une classe principale des antioxydants présents dans les plantes et sont généralement quantifiés par la méthode colorimétrique celle de Folin-Ciocalteu pour les polyphénols et celle au chlorure d'aluminium pour les flavonoïdes (*Kanatt et al., 2007*).

), les taux des polyphénols dans les extraits aqueux de la verveine exprimés en µg Eq AG/ml d'extrait ou par gramme de matière sèche ont été calculés en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (annexe 03) et les taux de flavonoïdes exprimés en µg EAq. /ml d'extrait ou par gramme de matière sèche ont été calculés en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (annexe 03), Les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau 10

La teneur en composés phénolique montre que l'extrait aqueux de *Verbena officinalis* contient entre 1,70-6,23 mg EqAG/g d'extrait sec, teneurs légèrement supérieures à celles obtenues par **Stocker et al., (2004)** en utilisant la macération comme méthode et le méthanol comme solvant d'extraction (600mg/100g d'extrait), cette différence est due à la nature de solvant utilisé, et/ou la méthode d'extraction et peut être même à l'origine de la plante.

Tableau 7: Teneurs des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux de *Verbena officinalis*.

Extraits		E1 _{10mn}	E1 _{20mn}	E1 _{30mn}	E2 _{10mn}	E2 _{20mn}	E2 _{30mn}
Taux de Flavonoïdes	µg EqQ/ml d'extrait	6.15	22.56	23.58	27.17	31.28	31.79
	µg EqQ/g de matière sèche	51.25	188	196.5	113.20	130.33	132.45
Taux de Polyphénols	µg Eq AG/ml d'extrait	204.5	398.1	591.6	785.16	978.7	1494.5
	µg Eq AG/g de matière sèche	1704	3317.5	4930	3271.15	4077.9	6227

Lors du dosage des flavonoïdes, après l'addition d'AlCl₃ et après incubation une couleur jaunâtre est obtenue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'extrait de la plante, ce qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles de *Verbena officinalis*.

La teneur en flavonoïdes (tableau 10) montre que l'extrait aqueux des feuilles de *Verbena officinalis* contient environ de 51.25 à 132.45 µg EqQ/g de matière sèche. Les feuilles de *Verbena officinalis* d'Algérie sont riches en flavonoïdes. Toutefois, reste largement inférieur à celui rapporté par **Ben ammar et al., (2007)** pour l'extrait aqueux des feuilles de *R. alternus* de Tunisie.

V.3. Activité antioxydant

V.3.1. Activité anti-radicalaire

L'extrait aqueux de *Verena officinalis* présente une activité anti-radicalaire contre le radical DPPH dépendante de la concentration de l'extrait, par une dégradation de couleur violette de la solution DPPH. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits de *Verbena officinalis* en tant qu'antioxydants (Morel et al., 2018). La méthode utilisée pour mesurer une activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du test DPPH (1,1 -diphényle-2-picrylhydrazyle). (Majhenic et al., 2007).

Les résultats nous démontrent l'augmentation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait. (Figure 10)

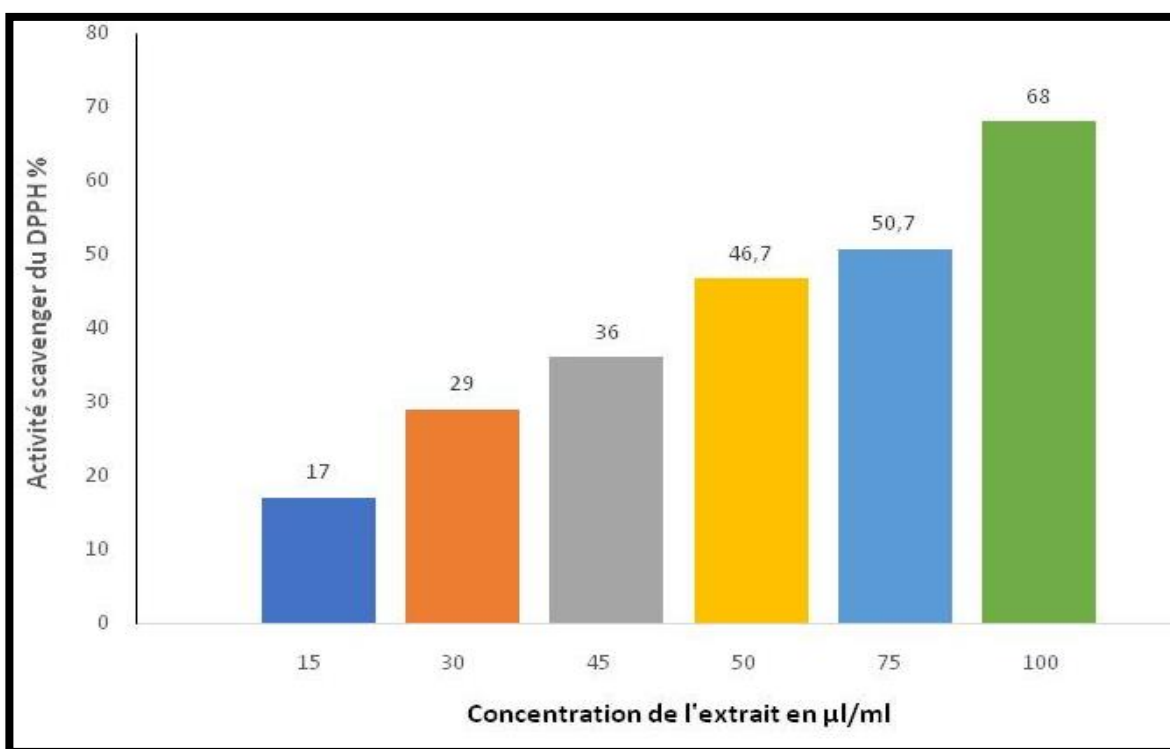


Figure 7 : Taux d'inhibition du radical DPPH de l'extrait aqueux EI20 de « *Verbena officinalis* » à différentes concentrations.

Les résultats du pouvoir antioxydant de l'extrait montrent que le pouvoir anti-radicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition de l'extrait de verveine est supérieur à 60% pour un volume de 100µl d'extrait.

L'efficacité de l'extrait aqueux de la verveine à piéger le radical DPPH a été évaluée par l'IC50 Qui dans notre cas a été trouvé égale à 75µl d'extrait qui correspond à 27,86 µg EqQ/ml.

L'efficacité anti radicalaire anti DPPH a aussi été testée pour un flavonoïde pur, la quercétine et un polyphénol simple pur, l'acide gallique. Les résultats obtenus sont indiqués en annexe et montre que les IC50 pour ces deux polyphénols sont respectivement 43 et 40 µg/ml ; ces résultats indiquent que l'extrait de verveine possède une efficacité proche de celle des deux molécules pures.

Il a été prouvé que les molécules antioxydants telles que flavonoïde, tannin etc. Réduisent et décolorent le DDPPH en raison de leurs capacités à céder l'hydrogène (**De Pooter et al.,1986**).

V.3.2. Le pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur peut être décrit comme un test basé sur le transfert d'électrons qui mesure les réducteurs (antioxydants) présents dans un échantillon sur la base d'une réaction d'oxydoréduction spectrophotométrique. (**Huang et al., 2005**)

Après l'addition de chlorure ferrique, une couleur bleue est obtenue dont l'intensité varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante, ce qui confirme les propriétés réductrices de la plante, et ceci par la réduction des ions Fe³⁺ /complexe de ferricyanure à la forme ferreuse (Fe²⁺) et ce pouvoir étant en fonction de la concentration d'extrait.

La figure 11 indique les résultats du pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Verbena officinalis* pour deux volumes V1=1ml et V2=0,5ml.

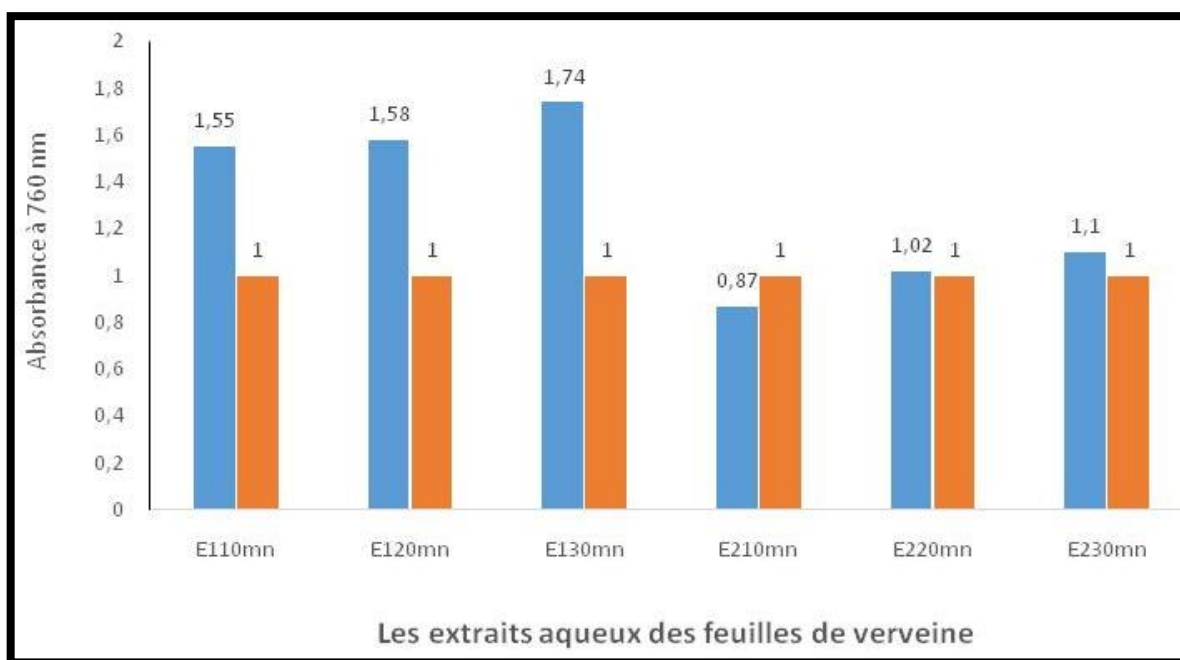


Figure 8 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux des feuilles de verveine V1= 1ml (bleu) et V2 = 0,500ml (orange)

Selon les résultats obtenus, On remarque que le pouvoir réducteur des extraits pour un volume de 1ml est légèrement meilleur pour l'extraction réalisé avec un rapport m/v de 0,12g/ml (E1_{10mn}, E1_{20mn}, E1_{30mn}) par rapport à l'extraction réalisé avec un rapport m/v de 0,24g/ml (E2_{10mn}, E2_{20mn}, E2_{30mn}). Alors que pour V2= 0,500ml, aucune différence n'a été observée. Cette augmentation est légèrement significative à partir de 1.55 jusqu'à 1.74.

Les feuilles de verveine (*Verbena officinalis*) ont montré un potentiel réducteur de 60100 (ug Eq/ 100mg de matière sèche. On constate que les résultats obtenus sont supérieurs à ceux rapporté par **atmani et al. (2009)**.

Ce mécanisme de réduction est souvent un indicateur d'activités des donneurs d'électron qui jouent un rôle clé dans l'activité antioxydant des polyphénols (**Yang et al., 2009**). En effet, plusieurs études ont suggéré que la capacité réductrice des composés phénoliques est proportionnelle au nombre et à la position des groupements OH et que celle-ci augmente lorsque deux groupements OH sont orientés en position ortho ou para (**Gardeli et al., 2008**).

La teneur en flavonoïde et polyphénols extraite dans l'eau est moins importante en comparaison avec une extraction éthanoïque. Par ailleurs, la nature du solvant détermine le type de molécules extraites (**Green, 2004 ; Barchan et al., 2014**). Pour cela certaines études

utilisent un mélange entre différents solvants avec des rapports variables pour une meilleure extraction des composés phénoliques (Trabelsi et al., 2010 ; Falleh et al.,2011).

Plusieurs études ont démontré que les extraits éthanoïques sont plus riches en composés phénolique et présentent des activités antioxydants plus fortes que les extraits aqueux c'est à dire ces derniers sont moins puissant (Hanane Fallen et al., 2021). Dans ce contexte, l'étude réalisée par Altun et al. (2013) a montré que le méthanol est le meilleur solvant pour extraire les polyphénols de *verbenaofficinalis* en comparaison avec l'eau distillée par l'extraction en décoction.

Cependant, il y a une corrélation positivement entre les polyphénols, les flavonoïdes totaux, et la capacité de stabiliser le radical de DPPH et réduire le faire d'extrait méthanoïque de la verveine, Par contre, l'extrait aqueux présente une capacité importante de réduire le cuivre et de chélate les ions ferreux selon l'étude ramené par (Oueslati, 2013).

Ce qui signifier que chaque activité antioxydant ne dépend pas seulement de la teneur en polyphénols mais aussi de la structure et de l'interaction entre certains composés.

De plus l'étude de (Funes et al.,2018) Met en évidence une corrélation entre l'activité antioxydant de l'extrait de verveine et la concentration en verbascoside (composé bioactif majeur de l'extrait).il présente une activité anti-inflammatoire par inhibition de la 5-lipoxygénase et inhibition de la cyclo-oxygénase Cox2(Sahpaz et al.,2002).

V.4. Potentiel anti-inflammatoire *in vitro*

V.4.1. Effet du traitement thermique sur les protéines du blanc d'œuf

Le suivie de la dénaturation thermique de l'ovalbumine partiellement purifiée a été effectué par mesure de la turbidité à 650 nm pour des échantillons du blanc d'œuf dilué a 1/20 et traiter à différent températures pendant 10, 20 et 30 mn.

Les résultats de l'évolution des moyennes des transmittance T (%) en fonction de temps (10 min 20 min 40 min) effectué immédiatement après traitement thermique à différentes températures croissantes allant de 56 C° à 90 C° (figure 12) montrent deux phases :

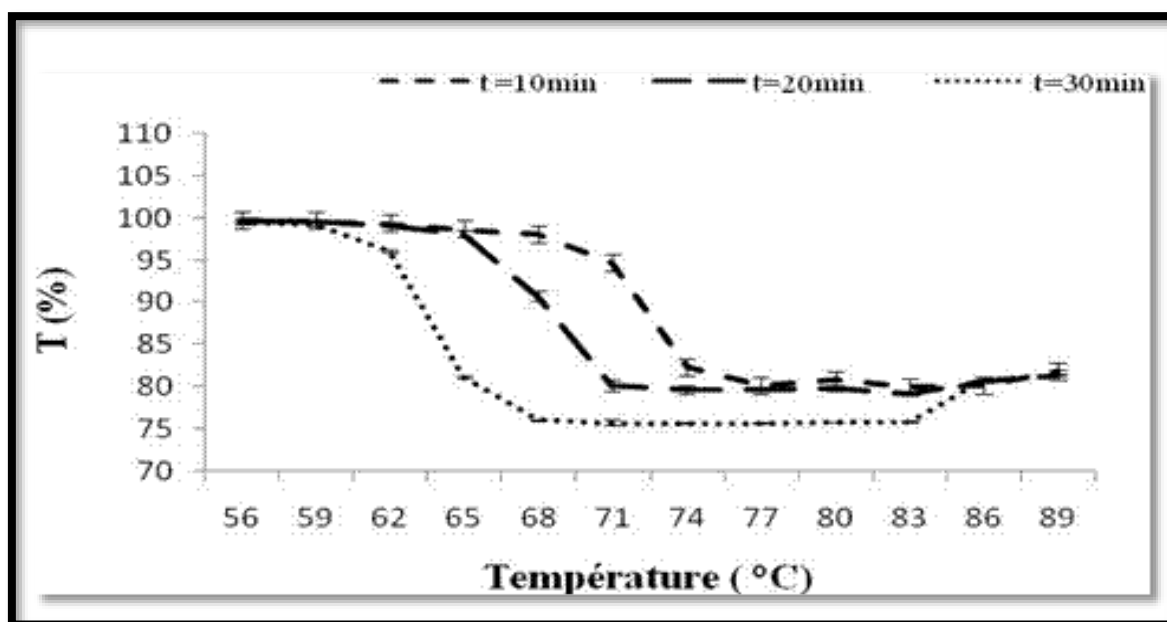


Figure 9 : Effets du traitement thermique de 3,10 et 20 Minutes sur la turbidité des solutions du blanc d'œuf (dilution à 1/20, avec l'eau distillé mesuré et réalisée immédiatement après traitement thermique.

- Phase stationnaire 1 (70-90 °C) : La transmittance est stable en fonction de la température et est inférieure à 80 % c'est la phase de dénaturation des protéines.
- Phase descendante 2 (56-70°C) : il s'agit de la phase de transition entre l'étape de dénaturation et l'étape d'agrégation, la transmittance est pratiquement égale à 100%

D'autre part, l'évolution du pourcentage de la transmittance mesurée après le traitement thermique en fonction du temps est significative et que le trouble est moins important à 10 min qu'à 20 et 30 min respectivement. Alors en prolongeant le traitement thermique, le trouble apparaît rapidement (à plus faible température). Le trouble apparaît à partir de 59°C à 40 min. Alors qu'à 10 et 20 min, il apparaît à 68°C et à 70°C respectivement. Ce qui dénote une augmentation de la vitesse de transition entre la dénaturation et l'agrégation des protéines en fonction du temps de traitement thermique.

Ces résultats nous ont permis de définir pour l'essai de l'effet des extraits de la stabilité thermique des protéines du blanc d'œuf, la température de dénaturation à 80°C et le temps de traitement à 30min pour obtenir un trouble mesurable et significatif (transmittance inférieur à 90%)

V.4.2. Évaluation de l'effet de l'extrait de verveine officinale sur la stabilité thermique de l'ovalbumine

L'effet de l'extrait aqueux de verveine sur les protéines de l'œuf traitées pendant 30mn à 80°C a été testé pour différents concentrations. Deux phénomènes ont été observés :

I-A fortes concentrations (extraits non dilué), une précipitation des protéines du blanc de l'œuf visible à l'œil nu qu'on pense dû à l'interaction des protéines avec les tanins potentiellement présents à forte concentration dans l'extrait de la plante. Les tanins sont des métabolites secondaires phénoliques qui ont comme propriété de précipiter les protéines et qui sont solubles dans l'eau (Hagerman, 2002).

A faibles concentrations (extraits dilués au 1/20), un effet inhibiteur de la dénaturation thermique des protéines du blanc d'œuf est détecté par la diminution de la turbidité à 660nm. Le résultat des taux d'inhibition sont représentés dans le tableau 11, Les taux d'inhibition pour les extraits testés correspond environs a 100 d'extrait diluer a 1/20 pour les 4 extraits la différence est peu significative, Les taux d'inhibition sont proportionnels aux concentrations des extraits et varient de 59,2% pour 100µl d'extrait dilué à 89,9% pour 500µl d'extrait dilué.

Les extractions en fonction du temps pour un même rapport m/v donnent des résultats semblables, c'est-à-dire que pour les rapports R1 et R2, les deux extractions à 10min ou 30 donnent des taux d'inhibition quasiment semblables (tableau 11).

Les extractions en fonction du temps pour un même rapport m/v donnent des résultats semblables, c'est-à-dire que pour les rapports R1 et R2, les deux extractions à 10min ou 30 donnent des taux d'inhibition quasiment semblables (tableau 11).

Tableau 8: Taux d'inhibitions de la dénaturation thermique des protéines du blanc d'œuf

Volume de l'extrait dilué au 1/20 en µl	Taux d'inhibition			
	Extrait E1 _{10min}	Extrait E1 _{30min}	Extrait E2 _{10min}	Extrait E2 _{30min}
100	41%	52,1%	49%	55,1%
200	59,2%	59,4%	60,2%	62,1%
300	71,9%	71,9%	77,9%	78 ,2%
400	75%	75%	80%	85,9%
500	77,8%	80,8%	88,8%	89,6%

Le phénomène de dénaturation de l'ovalbumine est irréversible et les interactions qui se produisent entre ses dernières sont de type ponts disulfures, hydrophobes, et électrostatiques.

Selon **Le chevalier (2005)**, les protéines natives monomériques sont dénaturées par la chaleur, engendrant la dissociation de liaisons hydrogène, le déploiement des chaînes polypeptidiques, l'exposition de résidus hydrophobes et de groupements réactifs enfouis au cœur des protéines à l'état natif. Quand les conditions le permettent, les protéines dénaturées s'associent en agrégats solubles de hauts poids moléculaires par formation de feuillets, puis, par formation de ponts disulfures, les protéines dénaturées associées en agrégats solubles polymérisent et engendrent un réseau tridimensionnel maintenu en place par des ponts disulfures, des interactions électrostatiques et hydrophobes.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants et anti-inflammatoires sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydant et anti-inflammatoire d'origine naturel doit être à l'ordre de jour. Ce travail avait pour objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydant et anti-inflammatoire d'une plante algérienne *Verbena officinalis* avec la méthode d'extraction par décoction afin de procéder à une quantification des composés phénoliques (polyphénols flavonoïde) à confirmer si les extraits à l'eau sont riches en composés phénoliques.

Après une première partie consacrée aux données de la littérature concernant les composés phénoliques et leurs activités anti-oxydant et anti-inflammatoire nous sommes intéressées dans la partie expérimentale à la mise au point de l'extraction des composés phénoliques. Notre extrait présente un taux de polyphénol de 204,5 et 1494,5 µg Eq Q/ml d'extrait.

Notre extrait présente un taux en flavonoïde de 6,15 et 31,79 µg Eq Q/ml d'extrait.

La mesure de l'activité antioxydant par deux méthodes : la méthode de réduction du radical libre DDPH et pouvoir réducteur, pour le premier test les résultats nous révèlent l'oxydation est efficacement inhibée par l'extrait testé. L'activité antioxydant est la plus élevée avec $EC_{50} = 0,050$ mg/ml.

Cette étude nous révèle que la *verveine officinale* est une source importante pour les antioxydants et anti-inflammatoires.

Les solutions d'extraits de *Verbena officinalis* ont été mélangées à la solution d'ovalbumine puis traitées thermiquement aux mêmes températures que celles énoncées en première partie du travail afin d'évaluer l'effet de l'extrait de la verveine sur la stabilité thermique des protéines de blanc d'œuf.

Tests *in vitro* de l'inhibition de la dénaturation thermique montrent que nos extraits ont un effet dénaturant à faible concentration.

Enfin le résultat obtenu constitue la recherche des substances d'origine naturelle active pour l'extraction des principes actifs qui peuvent être employés dans le but

Conclusion Générale

thérapeutique car ils jouent un rôle important dans la prévention de plusieurs maladies. La verveine contient des métabolites polaires qui présente un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Pour des meilleures perspectives Il serait intéressant dévaluer cette activité in vivo en utilisant d'autres méthodes tels HPLC pour mieux Il serait intéressant de caractériser les métabolites polaires.

Référence bibliographiques

A

- **Abott W. S. (1925).** a method for computing effectiveness of an insecticide. *Journal Ecological Entomology*.**18** :265-267.
- **Achiri., Belghyti D., Elqaj M. (2018).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antis parasitaires journée scientifique ressources naturelles et antibiotiques, Maroc. pp89-154.
- **Adjaj Moufida,** « Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Paronychia argentea* ». Article publié le 26/09/2018.
- **A, Hendrickx. M.E. (2006).** Effect of heat-treatment on the physico-chemical properties of egg white proteins: A kinetic study. *Journal of Food Engineering*. 75: 316-326.
- **Aiteur,K.Amrani,H.Khettal,B.(2017)** « Activité antioxydante et anti-inflammatoire de *Nigella sativa* L. » mémoire ,université de Bejaïa targa <http://univ-bejaia.dz/dspace/123456789/5094>.
- **Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. (2013).** Estimation of total phenolic content, in–vitro antioxidant and anti–inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 3(8): 623-627.
- **Aller Sahpaz S, Garbacki N, Tits M, Bailleul F.** Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *J Ethnopharmacol*. 2002 Mar;**79**(3):389-92. PMID 11849848.
- **Altun, M.L., Yilmaz,B.S., Orhan, I.E., Citoglu, G. (2013).** Assessment of Cholinesterase and Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Effects of *Hypericum Perforatum* L. (St . John ’ S Wort). *Industrial Crops & Products*. **43**: 87–92.
- **Amiour. (2018).** Les plantes aromatiques et antioxydants. Université de farés Mentouri constantine faculté des sciences de la nature et de la vie.
- **Anoop, M. V., & Bindu, A. R. (2015).** In-vitro anti-inflammatory activity studies on *Syzygium zeylanicum* (L) DC leaves. *International Journal of pharma research & review*. **4**(8): 18-27.
- **Atamer, A. (2008).** The importance of paraoxonase 1 activity, nitricoxide and lipidperoxidation in hepatosteatosis. *J. Int. Med.Res*.**36** : 771-776p.

Référence bibliographiques

- **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010).** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* *Lebanese Science Journal.* **11**(1): 69-81.
- **Atmani, D. and VallsFounayet, J. (2022).** Analysis of individual anthocyanins, flavanols, flavonols and other polyphenols in *Pistacia lentiscus L.* fruits during ripenin. *Journal of Food Composition and Analysis.* **106**: 104-286.

B

- **Barnes, P. J. (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science.* **94**(6): 557-572.
- **Barnig C, (2016).** Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique. *Rev Fr Allergol .* **56**: 38-42.
- **Barton, G. M. (2008).** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of clinical investigation.* **118**(2): 413-420.
- **BELLAKHDAR J. et al. (1994).** Composition of Lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) oil of moroccan origin. *J. Essent. Oil Res.* **6**(5) : 523-526
- **Bouchebah., souhila.(2015).** « Études des activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de plantes :*Inula viscosa L* ». Thèses, URL: <http://univ-bejaia.dz/dspace/123456789/10326>.
- **BOUDJOUREF, Mourad. (2020).** Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits d'*Artemisia campestris*.
- **Bysani Jagannatha Divya, Bukke Suman, Mallepogu Venkataswamy, Kalla Chandra Mouli, and Kedam Thyaga Raju,** “An Analysis of in Vitro Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Mucuna pruriens* (Leaves) and *Allium sativum* (Bulbs) “2019. Proceeding of the International Conference on Computational and Bio Engineering, Volume 1, 151-164.

C

- **Charles, N. S., Peter, A. W. & Derek, W. G. (2010).** Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press.* **2**(3).
- **Chou, C. T. (1997).** The Antiinflammatory Effect of an Extract of *Tripterygium wilfordii* Hook F on Adjuvant-induced Paw Oedema in Rats and Inflammatory Mediators Release. *Phytotherapy research.* **11**(2): 152-154.

D

- **De Pooter H.L. et Schamp N. (1986).** comparison of the volatils composition of some calamintha satureja species. In : progressin essential oil research. Ed. E-J. brunk, Walter de Gruyter, Berlin.
- **Delattre J., Beaudeau J.L., Bonnefont- Rousselot D.** « Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène ». In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Lavoisier, Paris, 2005 pp: 45-80.
- **Deutsch J-C.** "Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid Interconversion without Net Oxidation or Reduction." *Analytical Biochemistry*. **247**(1) 1997. PP : 58-62.
- **Dieu-Hien Truong, Dinh Hieu Nguyen, Nhat Thuy Anh Ta, Anh Vo Bui, Tuong Ha Do, Hoang Chinh Nguyen,** "Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and *In Vitro* Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*", *Journal of Food Quality*, vol. 2019, Article
- **Doukhi B. et Bougdoum M.** « Contribution à l'étude des activités biologiques de la plante : *Chiarella minore* ». Mémoire de master, Biochimie appliquée, Université Oum El Bouagui, 2020-2021. Page 24.

E

- **Edreva A.** « Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach ». *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **106**(2-3) 2005. PP. 119-133.
- **Ehsan, O., Norhani, A., Wan, Z. S., Abdul, R. O., Syahida, A., Wen, B. K., Yin, W. H. (2011).** Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*. **5**(1): 49-57.
- **Essakalli M., Atouf O., Bennani N., Benseffaj N., Ouadghiri S., Brick C. (2009).** Toll-like récepteurs. *Pathol Biol*. **57**: 430-438.

F

- **Falleh H., Jalleli I., Ksouri R., Boulaaba M., Guyot S., Magné C., Abdelly C. (2012).** Plant physiology and biochemistry effect of salt treatment on phenolic compounds and antioxidant activity of two Mesembryanthemum edule provenances. *Plant Physiol Biochem*. **52**: 1-8.

Référence bibliographiques

- **Felipe SA, Rodrigues ES, Martin RP, Paiva AC, Pesquero JB, Shimuta SI, (2007).** Functional expression of kinin B1 and B2 receptors in mouse abdominal aorta. *Braz J Med Biol Res.* **40**: 649-655.
- **Funes L et al.** « correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels of verbena extract “. *food chemistry* 2009. **117**(4):589-98.

G

- **Gardeli C, Papageorgiou V, Mallouchos A, Theodosis K and Komaitis M (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L.* and *Myrtuscommunis L.*: Evaluation of antioxidant capacity of methalonic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120-1130.
- **Giséle,E.Gay,P.(2018).** « évaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoire de *Phragmanthera capitata* ». eISSN: 1997-342X print ISSN: 1991-8631.
- **Govindappa, M., Bharath, N., Shruthi, H. B., Sadananda, T. S., Sharanappa, P. (2011).** Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Crotalaria pallida Aiton.* *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **5**(21): 2359-2371.
- **Govindappa, M., Naga, S. S., Poojashri, M. N., & rappa, C. P. (2011).** Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata (L.) Hitchc.* *Journal of pharmacognosy and phytotherapy.* **3**(3): 43-51.
- **Green RJ .(2004).** Antioxidant activity of peanut plant tissues. Masters Thesis. North Carolina State University. USA. 82p.
- **Habouche, H., Mimoune, S. (2019).** « Étude in vitro de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de *Matricaria pubescens*.
- **Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008).** Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, 44-61 p.
- **HAMMA S.A et al.** « Biologie des espèces réactives et stress oxydant ». *Journal Algérien de Médecine (Jam)* Vol XXIII, N°2 Mars/Avril 2015. Page 49.
- **Henrotin, Y .,Doby-Dupont, G .,Reginster, J ,Y. (2001).** Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Medical de Liege.* **56**(6) : 433- 442

Référence bibliographiques

- **Huang, D., Ou, B., Prior, R.L.P. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*.**53**: 1841–1856.
- **Hurtado Nedelec, M., Dang PMC, Monteiro, RC., El Bennab, J., Gougerot-Pocidaloa ,MA. (2014).** Physiologie des polynucléaires neutrophiles humains. *R F L*. 25-38.

I

- **Ibrahima, D. ; (2019).** Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *lentinula edodes* (shitake) sous différentes conditions de culture. Thèse de doctorat. Université de Montpellier. P 44
- **Iwalewa, E. O., McGaw, L. J., Naidoo, V., & Eloff, J. N. (2007).** Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*. **6**(25).

J

- **Jamieson T., Cook DN., Nibbs RJ., Rot A., Nixon C., McLean P., Alcami A., Lira SA., Wiekowski M., and Graham GJ. (2005).** The chemokine receptor D6 limits the inflammatory response in vivo. *Nat Immunol* .**6**: 403–411.

K

- **Kherbache, Abdallah.(2018).** Propriétés anti-inflammatoire et antioxydante des extraits d'anacyclus clavatus. Thésés <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1906>
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. **20**(4), 165-177.
- **Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Hamdi B., Chaieb K., Bakhrouf A., Magne C., AbdellyC. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem Toxicol*. **47**: 2083–2091.

Référence bibliographiques

- **Kumar T, Jain V, (2014).** Antinociceptive and anti-Inflammatory activities of *Bridelia retusa* methanolic fruit extract in experimental animals. *Scientific World Journal*. Article ID 890151.

L

- **Lebouazid R., Meziani R., Karouche S. (2021).** Etude des activités antioxydante et anti-inflammatoires de l'espèce *bunium mauritanicum*.
- **Lechevalier V. (2005).** Cisaillement, création d'interfaces et traitement thermique. Van der Plancken. I, Van Loey.
- **Lefebvre M. (2014).** Composition des avances thérapeutique du syndrome articulaire dégénératif entre médecine humaine et médecine équine. Thèse de doctorat. Campus vétérinaire de Lyon. P 41-42.
- **Levy JH., Kelly AB. (1993).** Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. **40**(11): 1009-1015.
- **Lopez G V., Batthyany C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro E., Radi R., Gonzalez M., Cerecetto H., and Rubbo H.** "Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs". *Bioorg. Med. Chem.* 2005. **13**: 5787–5796.

M

- **Ma, L., Liu, Z., Zhou, B., Yang, L., Liu, Z. (2000).** Inhibition of free radical induced oxidative hemolysis of red blood cells by green tea polyphenols. *Chinese science bulletin*. **45**(22) : 2052-2056.
- **Majhenic L., kerjet M.S., Knez Z. (2007).** Antioxydant and antimicrobial activity of garana seed extracts. *Food chemistry*. **104**: 1258-1268.
- **Makheloufi ahmed.** Etude des activités antimicrobiennes antioxydants de deux plantes médicinales à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubscens* (Dest) et *Rosmarinus officinalis* L et leurs impacts sur la conservation des dattes et du beurre Doctorat d'état biologie. universite aboubaker Belkaid.
- **Manicone, A.M., McGuire, J.K. (2008, February).** Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 19, No. 1, pp. 34-41). Academic Press.

Référence bibliographiques

- **Marsolais D., Frenette J. (2005).** Inflammation et réparation tendineuse. *Médecine sciences.* **21**(2) : 181-186.
- **Maud, M. (2016).** L'aromathérapie, une alternative thérapeutique efficace dans la prise en charge de la douleur, savoir choisi et utiliser les huiles essentielles.
- **Mayol, K. Cavalié, F. Davoust-Nataf, N. (2013).** Les médiateurs de l'inflammation. Anonyme.
- **Mayol, K. Cavalié, F. Davoust-Nataf, N. (2013).** Les médiateurs de l'inflammation. Anonyme.
- **Medjour, w., Ben Aoun A., Karim .(2017).** Contribution à l'étude phytochimique, des activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire) d'une plante Saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt & Trab, 572.01/044. <http://dspace.univ-eloued.dz/handle/123456789/519>.
- **Migdal C., Serres M.** « Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant ». *Médecine/sciences.* 2011. **27** : PP : 405-412.
- **Moualek, I., Aiche, G. I., Guechaoui, N. M., Lahcene, S., & Houali, K. (2016).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian pacific journal of tropical biomedicine.* **6**(11): 937-944.
- **Moualek, I., Aiche, G. I., Guechaoui, N. M., Lahcene, S., Houali, K. (2016).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian pacific journal of tropical biomedicine.* **6**(11): 937-944.
- **Mouffouk., Ch. (2019).** Evaluation des activités biologique et étude de la composition chimique de la plante *scabiosa stellata* L. thèse de doctorat. Université de batna 2.p 25.
- **Nyathi Y., Baker A.** «Plant peroxisomes as a source of signalling molecules ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular Cell Research.* 1763(12) 2006. PP. 1478-1495.

O

- **O'Connor, T. M., O'Connell, J., O'Brien, D. I., Goode, T., Bredin, C. P., Shanahan, F. (2004).** The role of substance P in inflammatory disease. *Journal of cellular physiology.* **201**(2): 167-180.
- **Orliaguet, G., Gall, O., Benabes Lambert, F. (2013).** Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le praticien en anesthésie réanimation.* **10**: 2.
- **Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., Pedersen, B. K. (1999).** Pro-and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *The Journal of physiology.* **515**(1): 287-291.
- **Oueslati S, Trabelsi N, Boulaaba M, Legault J, Abdely C, Ksouri R. (2012).** Evaluation of antioxidant activities of the edible and medicinal Suaeda species and related phenolic compounds. *IndCrops Prod.* **36** :513–518.
- **Oueslati S. (2013).** Exploration de la variabilité de la composition phénolique et des activités biologiques chez quatre halophytes du genre Suaeda. Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université de Tunis El Manar. 134p.
- **Oyaizu, M., 1986.** Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics.* **44**: 307–315.

P

- **Pacheco, Y., Cheria, S., Hosni, R., Aloui, R., Gormand, F., Chabannes, B., Perrin fayolle, M., Lagarde, M., (1993).** Cytokines et eicosanoïdes dans les processus inflammatoires. *Rev. fr. Allergol.* **33** : 298-310.
- **Pasquier C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. *Rev Fr Lab.* 1995. **276** : 87-92.
- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., and Defraigne, J. (1999).** "Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer." *Medi-Sphere.* **97** : 29-33.

R

- **Raimi, M. M., Oyedapo, O. O. (2009).** Bioactivity-guided evaluation of the root extract of *Plumbago zeylanica*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* **3**(4).

Référence bibliographiques

- **Ryan, G.B., Majno, G. (1977).** Acute inflammation. A review. *The American journal of pathology.* **86**(1): 183.

V

- **Varghese, C. P., Ambrose, C., Jin, S. C., Lim, Y. J., & Keisaban, T. (2013).** Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Eurycoma longifolia* Jack, a traditional medicinal plant in Malaysia. *Int J Pharm Sci Nanotechnol.* **5**(4): 1875-8.

S

- **Sakat, S., Juvekar, A. R., Gambhire, M. N. (2010).** In vitro antioxidant and antiinflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* **2**(1):146-155.
- **Serteyn, D., Grulke, S., Franck, T., Mouithys-Mickalad, A., Deby-dupont G. (2003).** La myeloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de defense aux capacités oxydantes. *Ann Med Vet.* **147** :79-93.
- **Shinde, U. A., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., Saraf, M. N. (1999).** Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action 43 for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia.* **70**(3), 251-257
- **Sibilia, J. (2003).** Les corticoïdes : mécanismes d'action, lqsa lettre du rhumatologue. 289 : 24.
- **Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture.* **16**:144-153.
- **Stevenson, D. and Hurst, R. (2007).** Polyphenolic phytochemicals –just antioxidants or much more Cellular and Molecular Life Sciences. **64**(22): pp 2900-2916.
- **Stramer BM, Mori R, Martin P, (2007).** The inflammation-fibrosis link? A Jekyll and Hyde role for blood cells during wound repair. *J Invest Dermatol.* **127**:1009-1017.

\mathcal{T}

- **Tessier, F., Marconnet, P.** « Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice », Revue *Sci Sports*, N°10 (1995). pp. 1-13.
- **Trabels N., Oueslati S., Falleh H., Waffo-Teguo P., Papastamoulis Y., Merillon J.M., Abdelly C., Ksouri R.** 2012. Isolation of powerful antioxidants from the medicinal halophyte *Limoniastrum guyonianum*. *Food Chem.* **135** :1419–142.
- **Trabsa hayat.** « Activité antioxydante et anti inflammatoire des fractions des plantes médicinales *Sedum sediform* ». Article publié le 22/05/2018 : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1707>. Consulté le 10/08/2022.

\mathcal{W}

- **Weill B., Batteux F., Dhainaut J. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris).12-23.
- **Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerz R. (2007):** Antioxydant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry* .**105** :940-949.

\mathcal{Y}

- **Yang, X.M., Yu, W., Ou, Z.P., Liu, W.M., Ji, X.I. (2009).** Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. fruit. *Plant Foods for Human Nutrition*. **64** : 167-173.

\mathcal{Z}

- **Z. Helbaoui, 2007.** « étude de l'activité antioxydante des fraction lipidique,proteique et phénolique des graines de sogho local »,Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister,université kasdi Merbah Ouargla.
- **ZERARGUI F.** « Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives ». Thèse de doctorat en Biochimie, université Sétif 1, 2015. Page 15.

Annexes

ANNEXE 1 : effet scavenger du DPPH par la quercétine ou l'Acide galique

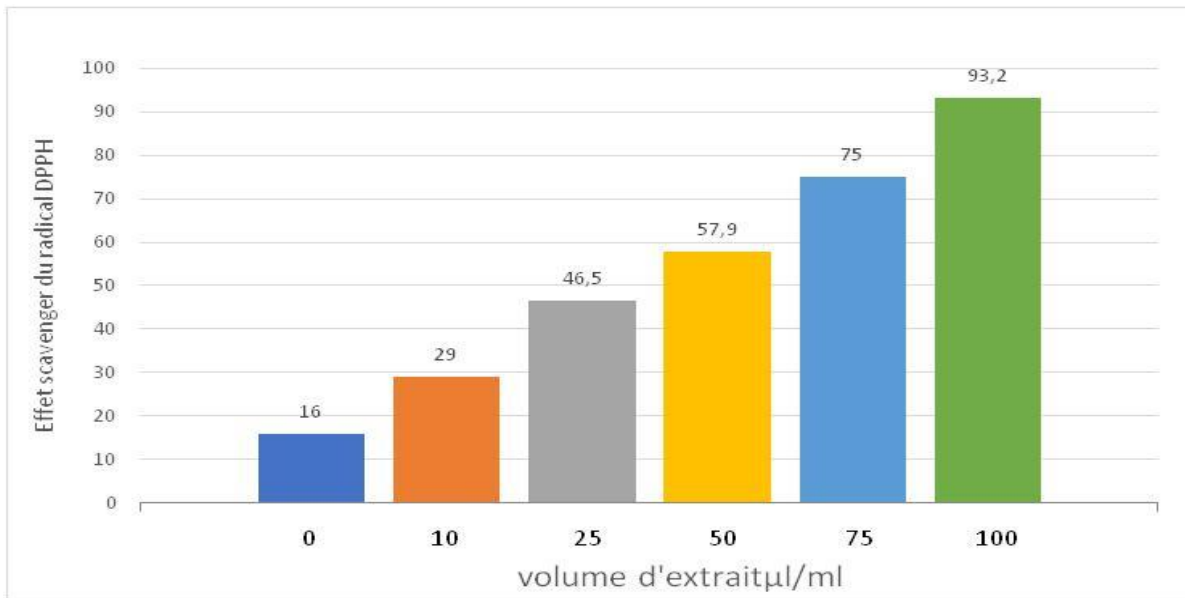


Figure : Effet scavenger contre le radical DPPH du standard quercétine à différentes concentrations.

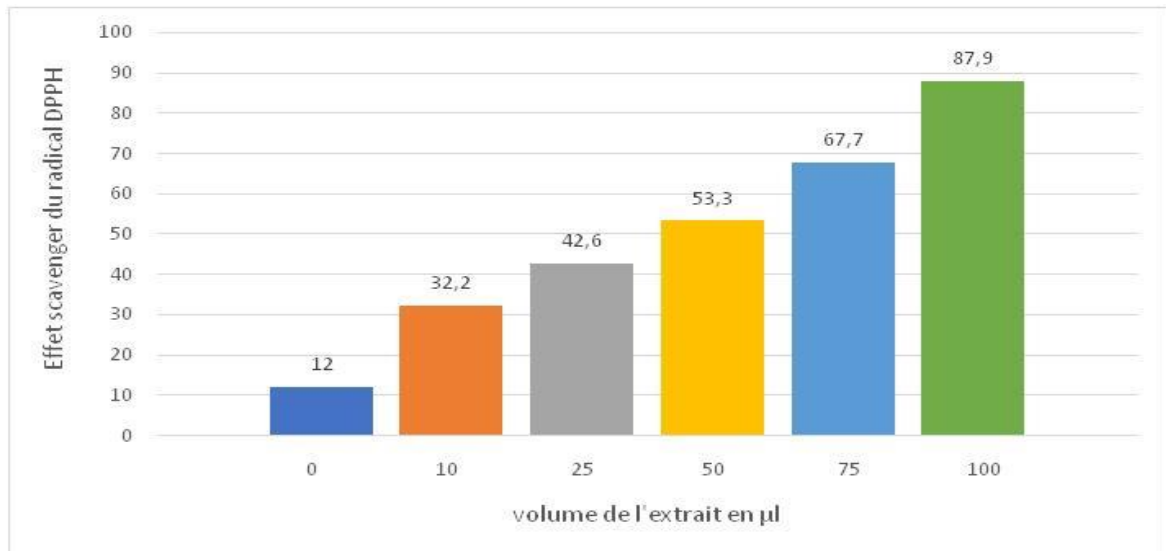


Figure : Effet scavenger contre le radical DPPH du standard acide gallique avec différentes concentrations.

Annexes

ANNEXE 2 : Tableaux représentatifs des différents tests des extraits de *Verbena officinalis* en présence de l'ovalbumine avec une série de concentration

Rapport 01 :

Concentration	Ovalbumine (ml)	Eau (µl)	Extrait (10min) en µl	DO a 517nm
C0	5ml	500 µl	0 µl	0,480
C1	5ml	400 µl	100 µl	0,666
C2	5ml	300 µl	200 µl	0,797
C3	5ml	200 µl	300 µl	0,809
C4	5ml	100 µl	400 µl	0,858
C5	5ml	0	500 µl	0,901

Rapport 2 :

Concentration	Ovalbumine (ml)	Eau(µl)	Extrait (10min) en µl	DO a 517 nm
C0	5ml	500 µl	0 µl	0,627
C1	5ml	400 µl	100 µl	0,640
C2	5ml	300 µl	200 µl	0,799
C3	5ml	200 µl	300 µl	0,812
C4	5ml	100 µl	400 µl	0,901
C5	5ml	0	500 µl	0,977

Rapport 01 :

Concentration	Ovalbumine (ml)	Eau (µl)	Extrait (30min) en µl	Do a 517 nm
C0	5ml	500 µl	0 µl	0,457
C1	5ml	400 µl	100 µl	0,541
C2	5ml	300 µl	200 µl	0,612
C3	5ml	200 µl	300 µl	0,667
C4	5ml	100 µl	400 µl	0,799
C5	5ml	0	500 µl	0,899

Rapport 02 :

Concentration	Ovalbumine (ml)	Eau(µl)	Extrait (30min) en µl	Do a 517nm
C0	5ml	500 µl	0 µl	0,544
C1	5ml	400 µl	100 µl	0,625
C2	5ml	300 µl	200 µl	0,720
C3	5ml	200 µl	300 µl	0,798
C4	5ml	100 µl	400 µl	0,834
C5	5ml	0	500 µl	0,918

Annexe 3 : Taux des polyphénols et flavonoïdes

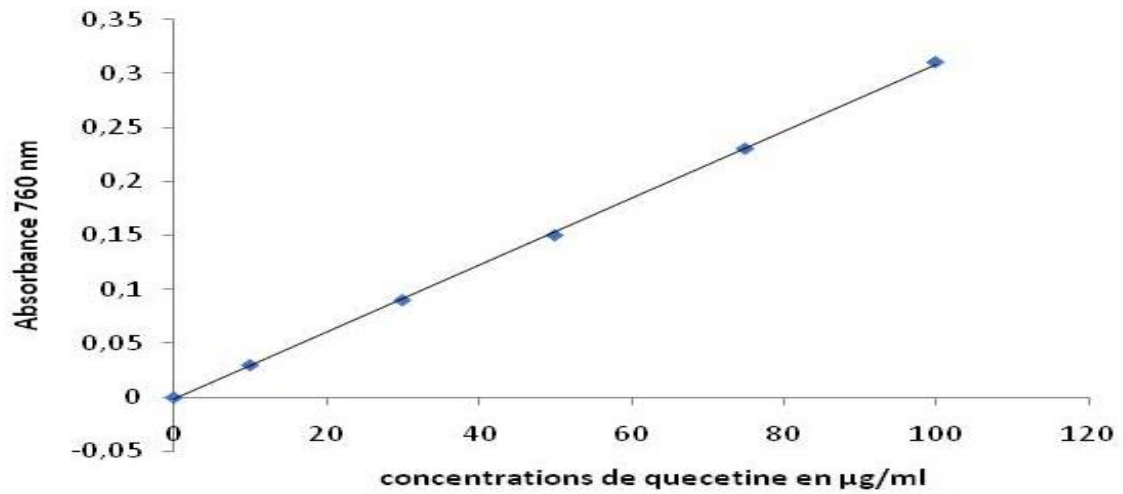


Figure : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

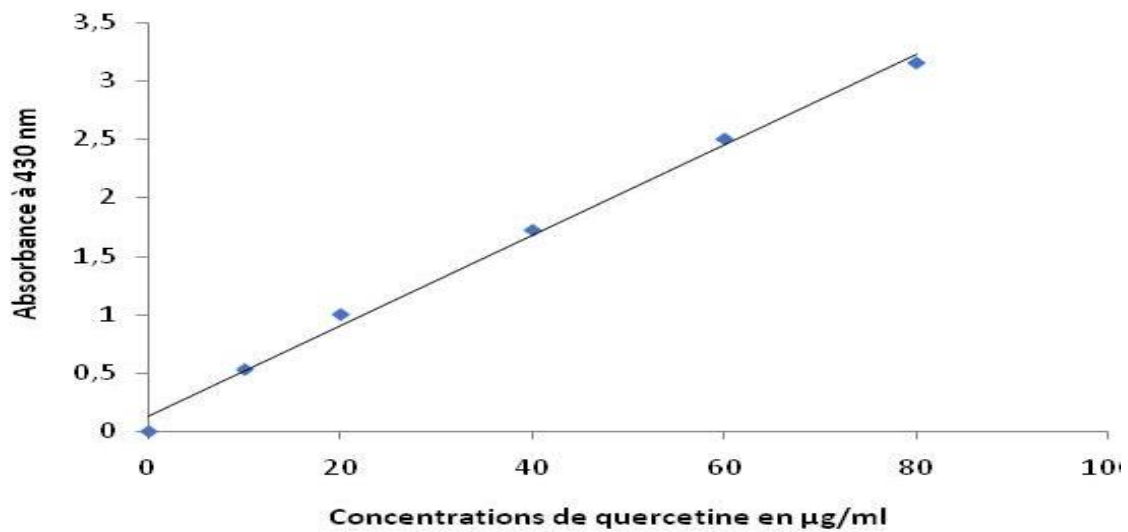


Figure : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Résumé

L'objectif du travail c'est d'évaluer le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire des extraits des feuilles de verveine *Verbena officinalis* obtenues par décoction. Les résultats obtenus montrent que les différents extraits contiennent des taux de flavonoïdes entre (6.15 et 31.19 µg Eq Q/ml d'extrait) et des taux de polyphénols entre (204.5 et 1494.5 µg Eq Q/ml d'extrait). Les tests anti-radicalaires DPPH montre que les extraits ont des IC50 de l'ordre (28.27 ug Eq AG/ml). Le test in vitro de l'inhibition de la dénaturation thermique montrent que nos extraits ont un effet anti-dénaturant à faibles concentrations. Ces résultats présentent un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Mots clés : *Verbena officinalis*, antioxydant, anti-inflammatoire, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

The objective of the work is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory potential of extracts of verbena leaves *Verbena officinalis* obtained by decoction. The results showed that the different extracts contain flavonoid levels between (6.15 and 31.19 µg Eq Q/ml of extract) and polyphenol levels between (204.5 and 1494.5 µg Eq Q/ml of extract).

The DPPH anti-radical tests show that the extracts have IC50 values of around (28.27 ug Eq FA/ml). The in vitro thermal denaturation inhibition test demonstrated that our extracts have an anti-denaturing effect at low concentrations. These results show antioxidant and anti-inflammatory potential.

Keywords: *Verbena officinalis*, antioxidant, anti-inflammatory, polyphenols, flavonoids.

الملخص

الهدف من العمل هو تقييم القدرة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات لمستخلصات الأوراق من (*verbena officinalis*) المخزنة التي تم الحصول عليها عن طريق ديكوتيون. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن الاختلاف. تحتوي المستخلصات على مستويات الفلافونويد بين (6.15 و 31.19 ميكروغرام مكافئ Q / مل من المستخلص) ومستويات من البوليفينول بين (204.5 و 1494.5 ميكروغرام مكافئ Q / مل من المستخلص). أظهرت اختبارات (DPPH) المضادة للجذور أن المستخلصات لها قيم (IC50) تبلغ حوالي (28.27 ميكروغرام مكافئ AG / مل). أظهر الاختبار في المختبر لتثبيط التمسح الحراري أن مقتطفاتنا لها مضاد تغيير الطبيعة بتركيزات منخفضة. تظهر هذه النتائج مضادات الأكسدة ومضادات-التهابات.

الكلمات المفتاحية: رعي الحمام، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، البولي فينول، الفلافونويد.