

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

*UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique*

Mémoire de Master

Discipline : Sciences de la Nature et de la Vie

Option: Pharmacologie moléculaire

Thème

**Evaluation de l'activité anti-oxydante des
extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et de la
partie aérienne de *Hyoscyamus albus*.**

Présenté par :

M^{elle} OUSSALAH Yasmina

M^{elle} SAICHE Sara

Membres du Jury:

Présidente: M^{me} Bedjou F.

Promotrice: M^{elle} Adrar S.

Examinatrices: M^{me} Zemouri S.

M^{me} Bennai Y.

Grade et lieu

Professeur (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

Année universitaire : 2013/2014

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

*UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA –BEJAIA-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique*

Mémoire de Master

Discipline : Sciences de la Nature et de la Vie

Option: Pharmacologie moléculaire

Thème

**Evaluation de l'activité anti-oxydante des
extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et de la
partie aérienne de *Hyoscyamus albus*.**

Présenté par :

M^{elle} OUSSALAH Yasmina

M^{elle} SAICHE Sara

Membres du Jury:

Présidente: M^{me} Bedjou F.

Promotrice: M^{elle} Adrar S.

Examinatrices: M^{me} Zemouri S.

M^{me} Bennai Y.

Grade et lieu

Professeur (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

M.A.B (U.A.M.B).

Année universitaire : 2013/2014

Remerciements

On remercie, Dieu, le tout puissant pour nous avoir donné la foi qui nous a guidé jusqu'à la réalisation et l'aboutissement de ce projet.

Tout d'abord, on tient à remercier notre promotrice

M^{elle} ADRAR S., pour sa qualité d'enseignement, pour le suivi qu'elle nous a accordé au déroulement de ce mémoire, on vous suis très reconnaissantes de nous avoir encadrés, d'avoir dirigé ce travail et d'avoir veillé à son élaboration en ne ménageant aucunement votre temps et vos conseils.

On tient à remercier vivement les membres du jury

(M^{me} Bedjou F., M^{me} Zemourí S., M^{me} Bennaí Y.) d'avoir consacré de leur temps à la lecture de ce manuscrit, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail

Je tiens à remercier également tous les gens qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail

Qu'Allah le clément et miséricordieux vous accorde son aide dans tous vos projets et toute votre vie quotidienne

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A

*La mémoire de mon père, que dieu l'accueille dans
son vaste paradis.*

Ma mère

Mes deux frères Lamíne et Faouzi

Ma très chère sœur Karíma

Et à

tous ceux qui me sont chers...

Yasmína



Dédicaces

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :

A mes chers parents

A mon très cher frère Ali

A mes très chères sœurs

A ma très chère et adorable nièce: Inès

A toute ma famille et mes chers amis.

SARA



Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I *Camellia sinensis* (thé vert) et *Hyoscyamus albus* (jusquiame blanche)

I-1-<i>Camellia sinensis</i> (thé vert).....	2
I-1-1-Historique	2
I-1-2-Description de <i>Camellia sinensis</i>	2
I-1-3-Classification botanique du <i>Camellia sinensis</i>	3
I-1-4-Composition biochimique.....	3
I-1-5-Usage thérapeutique.....	5
I-1-6-Les activités biologiques du thé vert.....	5
I-1-6-1-Activité antioxydante.....	5
I-1-6-2-Activité anti-inflammatoire.....	6
I-1-6-3-Activité anticancéreuse.....	6
I-1-6-4-Activité antidiabétique.....	6
I-2- <i>Hyoscyamus albus</i> (Jusquiame blanche).....	7
I-2-1- Description de <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	7
I-2-2- Classification botanique de <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	8
I-2-3- Les noms vernaculaires de <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	8
I-2-4- Composition chimique de <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	8
I-2-5- Usage thérapeutique.....	9

Chapitre II : les radicaux libre e les antioxydants

II-1- Les radicaux libres.....	10
II-1-1-Définition.....	10
II-1-2-Les espèces oxydantes en biologies.....	10
II-1-2-1- Espèces réactives de l'oxygène.....	10
II-1-2-2- Espèces réactives de l'azote.....	12
II-1-3-Principales sources des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	12

II-1-3-1-Sources endogènes.....	12
II-1-3-2-Sources exogènes.....	15
II-1-4-Rôle physiologique des radicaux libres.....	15
II-1-5-Stress oxydatif.....	16
II-1-5-1-Définition.....	16
II-1-5-2Conséquence biochimiques du stress oxydant.....	16
II-1-5-3-Pathologies liées au stress oxydant.....	18
II-2-Les antioxydants.....	19
II-2-1-Définition	19
II-2-2-Les systèmes de défense antioxydants.....	19
II-2-2-1-Système antioxydants enzymatique	19
II-2-2-2-Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	22
II-2-2-3-Les composés phénoliques.....	24
II-2-2-3-4-Propriétés biologiques des polyphénols.....	28
II-2-2-3-5-Mécanismes antioxydants des polyphénols.....	29

Partie pratique

I-Matériel et méthodes.....	31
I-1-Matériel végétal.....	31
I-2-Séchage et broyage.....	31
I-3-Préparation des extraits.....	31
I-4-Dosage des composés phénoliques.....	34
I-4-1-Dosage des phénols totaux	34
I-4-2-Dosage des flavonoïdes.....	35
I-4-3-Dosage des tanins condensés (pro-anthocyanidines).....	36
I-5-Activités anti-oxydantes des extraits.....	37
I-5-1-Activité scavenging du radical DPPH°	37
I-5-2-Activité scavenging du radical ABTS ^{o+}	38
I-5-3-Pouvoir réducteur.....	40
I-6-Analyse statistique.....	40
II-Résultats et discussions.....	41
II-1-Extraction.....	41

II-2- Dosage des composés phénoliques.....	42
II-2-1-Dosage des phénols totaux.....	42
II-2-2- Les pro-anthocyanidines.....	44
II-2-3- Les flavonoïdes.....	45
II-3-L'activité antioxydante.....	46
II-3-1-L'activité scavenging du radical DPPH*.....	46
II-3-2-L'activité scavenging du radical ABTS ^{•+}	49
II-3-3-Le pouvoir réducteur.....	52
Conclusion et perspectives.....	56
Références bibliographiques.....	58
annexes	

Liste des abréviations

ABTS: 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate.

AlCl₃: Chlorure d'Aluminium.

ADN: Acide Desoxyribo-nucléique.

AOX: Antioxydant.

ASC: Vitamine C.

ATP: Adénosine triphosphate.

BHA: Buty- hydroxy- Anisol.

CAT: Catalase.

Cu⁺ : Cuivre.

CYP450: Cytochrome P450.

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl.

DRO: dérivés réactives d'oxygène.

ERN: espèces réactives d'azotes.

ERO: espèces réactives d'oxygènes.

EC: Epicatechine.

EC: Equivalent Catéchine.

EAG: Equivalent acide gallique.

EGC: Epigallocatechine.

EGCG: Epigallocatechines-3-gallate.

EQ: Equivalent quercétine.

FeCl₃: Chlorure ferrique.

Fe³⁺ : Ferricyanure de potassium.

GPx: Glutathion Peroxyde.

GSH: Glutathion avec la forme réduite.

GR: Glutathion réductase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

HPLC: Chromatographie en phase liquide à haute performance.

IC: Inhibition de concentration.

M: Molaire.

Me⁺ⁿ : Ions métalliques.

NO: Monoxyde d'azote.

NO₂[°] : Dioxyde d'azote.

O₂^{°-} : Anion superoxyde.

¹O₂: Oxygène singulet.

OH[°] : Radical hydroxyle.

ONOO[°] : Anion peroxydinitrite.

ROS: Reactive oxygen species.

SOD: Superoxyde dismutase.

TCA: Acide TrichloroAcétique.

XO: Xanthine Oxydase.

Liste des figures

Figure 1: <i>Camellia sinensis</i>	3
Figure 2: Structures chimiques des principaux catéchines	4
Figure 3: Structures chimiques des alcaloïdes du thé vert.....	4
Figure 4: Quelques photographies de <i>Hyoscyamus albus</i> L. (A) les feuilles et les fleurs, (B) la plante entière, (C) la feuille.....	7
Figure 5 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	15
Figure 6 : Mécanisme de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux.....	17
Figure 7 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	18
Figure 8 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées.....	19
Figure 9 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	21
Figure 10 : Réparation des principales défences antioxydantes dans la cellule.....	22
Figure 11 : Structures chimiques d'acide benzoïque et de l'acide cinnamique.....	25
Figure 12 : Structure chimique des tanins hydrolysable.....	26
Figure 13 : Les tannins condensés.....	27
Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes.....	27
Figure 15 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métallique (Me^{n+}).....	29
Figure 16 : Piégeage des radicaux libres (R°) par les polyphénols.....	30
Figure 17 : Photographies personnels des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> (D) et de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> (F)	31
Figure 18 : Schéma d'extraction de <i>Camellia sinensis</i>	33
Figure 19 : Schéma d'extraction de <i>Hyoscyamus albus</i>	33
Figure 20 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	34
Figure 21 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	35
Figure 22 : Réaction chimique de la vanilline avec les tanins condensés.....	36
Figure 23 : Protocole de dosage des pro-anthocyanidines.....	37
Figure 24 : Forme libre et réduite du DPPH.....	37
Figure 25 : Formation et piégeage du radical $ABTS^{\circ+}$ par un antioxydant donneur de H..	39

Figure 26 : Teneurs en phénols totaux dans les extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> (T) et la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> (J).....	42
Figure 27 : Teneurs en pro-anthocyanidines dans les extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> (T) et la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> (J).....	42
Figure 28 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> (T) et la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> (J).....	45
Figure 29 : Les pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH [•] des extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> et la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> et des standards..	47
Figure 30 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] en fonction de la concentration de la BHA et de l'acide ascorbique.....	48
Figure 31 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] en fonction de la concentration en extrait éthanolique de <i>Camellia sinensis</i>	48
Figure 32 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] en fonction de la concentration en extrait éthanolique de <i>Hyoscyamus albus</i>	49
Figure 33 : Les pourcentages de l'activité scavenging du radical ABTS ^{•+} des extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> et de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> et le standard.	50
Figure 34 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} en fonction de la concentration en extrait éthanolique de <i>Camellia sinensis</i>	51
Figure 35 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} en fonction de la concentration en extrait aqueux de <i>Hyoscyamus albus</i> ...	51
Figure 36 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] en fonction de la concentration en Trolox.....	52
Figure 37 : Représentation graphique de l'absorbance de l'ion ferreux (Fe ⁺²) du pouvoir réducteur des extraits des feuilles de <i>Camellia sinensis</i> et le standard BHA.....	53
Figure 38 : Pouvoir réducteur de l'antioxydant de synthèse de BHA.....	54
Figure 39 : Représentation graphique de l'absorbance de l'ion ferreux (Fe ⁺²) du pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de <i>Hyoscyamus albus</i> et le standard BHA.....	54

Listes des tableaux

Tableau I : Les noms vernaculaires d' <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	8
Tableau II : les principales vitamines impliquées dans le système antioxydant non enzymatique.....	23
Tableau III : Structures des différentes catégories des flavonoïdes.....	28
Tableau IV : Les pourcentages d'extraction des extraits de <i>Camellia sinensis</i>	41
Tableau V : Les pourcentages d'extraction des extraits de <i>Hyoscyamus albus</i>	41
Tableau VI : Les IC ₅₀ de l'extrait éthanolique de <i>Camellia sinensis</i> et l'extrait aqueux de <i>Hyoscyamus albus</i>	52

Introduction

Introduction

La plante est par nature aliment ou médicament ou les deux à la fois. L'homme a d'abord utilisé la plante uniquement pour se nourrir. Quand il a du faire face à des problèmes de dysfonctionnement organique, de maladies, il a encore fait appel à la plante en lui conférant encore un rôle plus précis, en lui demandant d'exprimer la totalité de son identité (**Fuinel, 2002**).

Ainsi, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en métabolites secondaires à savoir les polyphénols (les flavonoïdes, les tannins, les huiles essentielles etc.) qui possèdent un très large éventail d'activités biologique capable d'entraver l'action des radicaux libres (**Valko et al., 2007**).

Les radicaux libres sont depuis longtemps considérés comme potentiellement toxiques car ils ont la capacité d'endommager différents composants cellulaires vitaux, tels que les lipides, les protéines et l'ADN, et de conduire à la mort des cellules par stress oxydatif (**Ré et al., 2005**). Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydants / antioxydants afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme (**Laguerre et al., 2007**).

Camellia sinensis et *Hyoscyamus albus* sont deux plantes médicinales qui appartiennent respectivement à la famille des theaceae et des solanacées. Elles sont connues pour leurs nombreux effets bénéfiques (tonique, traitement des spasmes gastro-intestinaux).

Par conséquent, notre travail sera porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*.

Cette étude est présentée en deux parties :

- Le premier chapitre traite des généralités sur les deux plantes et le deuxième chapitre définit les radicaux libres et leur effets néfastes sur l'organisme d'une part et les antioxydants qui sont destinés à les neutraliser d'autre part;
- La partie pratique a pour objectif le dosage de quelques composés: composés phénoliques totaux, flavonoïdes et prothocyanidines et la détermination de l'activité antioxydante par trois différents tests (pouvoir réducteur, activité scavenging du radical DPPH[•] et activité scavenging du radical ABTS^{•+}).

Synthèse
bibliographique

Chapitre I

*Camellia sinensis et
Hyoscyamus albus*

I-Camellia sinensis (thé vert) et Hyoscyamus albus (jusquiame blanche)

I-1-Camellia sinensis (Thé vert)

I-1-1-Historique

Le thé fait partie de la vie courante de millions de personnes depuis plusieurs centaines d'années. Si, désormais on connaît bien l'histoire de développement progressivement mondial du thé, on date difficilement la naissance de l'utilisation de cette plante (**Maillet, 2003**).

La légende la plus répandue sur la découverte du thé se déroule en 2737 avant Jésus Christ en Chine, sous le règne de l'empereur Chen Nung, ce dernier, est le père de l'agriculture et de la médecine chinoises (**Ogle, 2009**).

Ainsi, toujours soucieux de la santé de ses sujets, leur recommande-t-il, par souci d'hygiène, de ne boire que de l'eau préalablement bouillie. Or, un jour où il procédait lui-même à cette opération, un souffle d'air arracha quelques feuilles à l'arbuste sous le quel il se reposait. Ces quelques feuilles tombèrent miraculeusement dans l'eau frémissante où elles infusèrent, Chen Nung, par curiosité y goûta et trouva cette boisson délicieuse. Le thé était né (**Sanchez et al., 2013**).

I-1-2-Description de *Camellia sinensis*

Camellia sinensis est un arbuste à feuilles persistantes appartient à la famille *Theaceae*, de 10 à 15 m de haut à l'état sauvage. Mais, dans la plupart des plantations, il est taillé à environ 1.5 m du sol pour former la « table de cueillette » qui facilite la récolte (figure1) (**Ross, 2005**).

Le théier possède une forte racine, les fleurs sont blanches à jaune clair. Le fruit est une capsule loculicide, les graines sont assez peu nombreuses, souvent aplaties ou ailées (**Namita et al., 2012**).

Cette plante, ayant besoin d'un climat chaud à l'humidité constante et abondante, pousse principalement dans les régions tropicales et subtropicales, le sol qui lui convient le mieux est acide (**Okamura et al., 2012**).



Figure 1: *Camellia sinensis* (Shah et al., 2013).

I-1-3-Classification botanique du *Camellia sinensis*

Règne : Plantae

Dévision : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Theales

Famille : Theaceae

Genre : *Camellia*

Espèces : *Camellia sinensis* (Jigisha et al., 2012)

I-1-4-Composition biochimique

Mille vertus sont attribuées à la consommation du thé, il est donc intéressant de savoir quels sont les : constituants organiques et minéraux à la base de ces effets. Depuis longtemps des chercheurs analysent la composition des feuilles du thé, ainsi que de leur infusé, au cours des siècles, les connaissances se sont de plus en plus concrétisées.

Les feuilles du thé contiennent plus de 200 composés bioactives (Luo et al., 2013) , parmi les principaux constituants on trouve :

- **Les polyphénols :** (30 à 40 %)

Les polyphénols apportés par le thé se sont les flavonoïdes représentés par les catéchines (figure2) près de 59% d'épigallocatechines-3-galaate(EGCG), 19% d'épigallocatechine (EGC), 13.6% d'épicatechin, 3-gallate (ECG) et de 6.4% d'épicatechine (EC) (Jhansee et al., 2013).

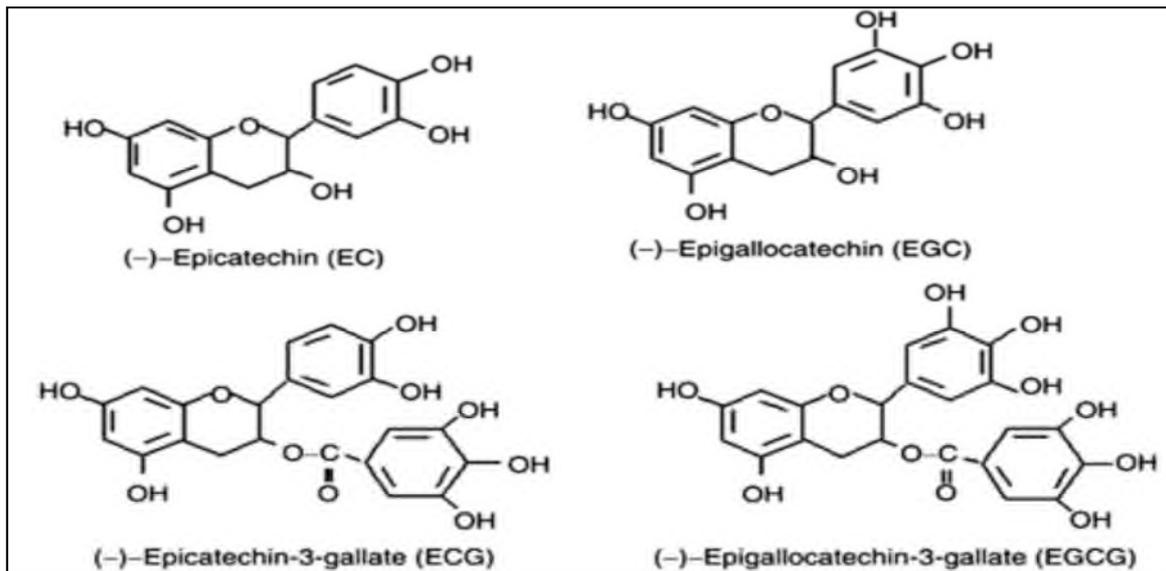


Figure 2: Structures chimiques des principaux catéchines (Marhamatizadeh *et al.*, 2013).

Le thé renferme des flavonols, principalement la quercétine, le kaempferol et la myricétine, ils sont sous forme de flavonols glycosides (Hamilton-miller, 1995). Il contient aussi une quantité significative d'acides phénoliques (acide gallique, acide coumarique,...) (Nkhili, 2009).

➤ Les alcaloïdes

Le thé renferme de la caféine (3 à 5 %) est une purine méthylée (1-3-7 triméthylxanthine), autrefois appelée théine. Il contient aussi de la théobromine et la théophylline (figure 3) (Vierling, 2008).

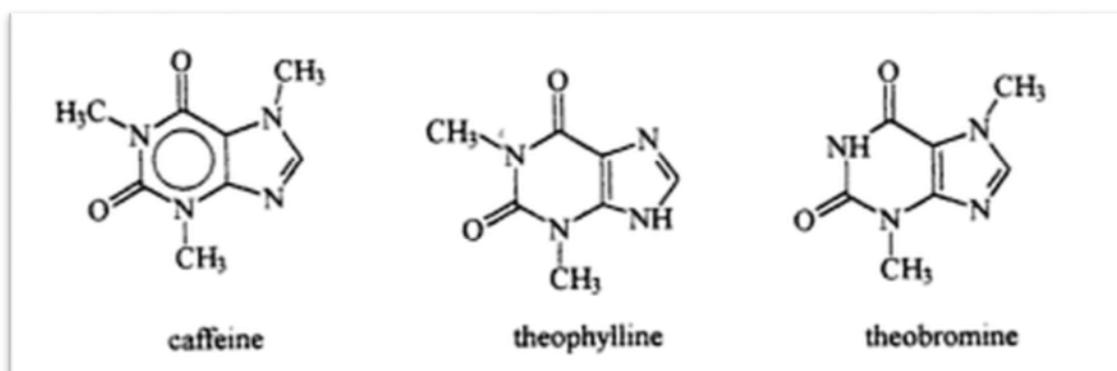


Figure 3: Structures chimiques des alcaloïdes du thé vert (Margaret *et al.*, 1998).

➤ Vitamines

Les vitamines sont des substances indispensables à l'organisme qui lui sont fournies par une alimentation diversifiée, le thé apporte une quantité plus ou moins importante. Il s'agit des vitamines du groupe B (thiamine B1, riboflavine B2, pyridoxine B6), l'acide ascorbique (vitamine C), tocophérol (vitamine E) et du rétinol (vitamine A) (Edeas, 2005).

➤ Autre composants

La feuille de théier contient des protéines (15 à 20%) et des glucides (5%) (Bruneton, 2009), 10 à 15% de matières minérales (le calcium, aluminium, manganèse, potassium et le fluor) (Da Silva Pinto, 2013).

I-1-5-Usage thérapeutique

Le thé vert est apprécié partout par le monde comme diurétique, tonique, anti diarrhéique, facilite la digestion et neutralise les toxiques. Les montagnards le prennent parfois sous forme d'infusion, fortement sucré comme défatiguant, au cours d'une longue marche (Nkhili, 2009). Dans la médecine traditionnelle chinoise, le thé est utilisé à une posologie moyenne de 6 g/jour (3,5 à 11 g/jour) en monothérapie ou 300 à 700 mg/jour en poly-thérapie, sous forme de décoctions, infusions, pilules ou poudres. Le broyat de thé peut être utilisé en application externe (Krieps, 2009).

I-1-6-Les activités biologiques du thé vert

I-1-6-1-Activité antioxydante

L'activité anti-oxydante a également été mise en évidence par plusieurs chercheurs. En effet, il a été montré que l'EGCG avait la capacité *in vitro* et *in vivo* de prévenir les effets délétères du stress oxydatif (Sharangi, 2009). Cette molécule serait un très bon piègeur de ERO et aurait des effets sur la transcription de certains facteurs et enzymes impliqués dans ces mécanismes d'oxydation. De plus l'EGCG posséderait la propriété de chélater des ions métaux (Cu^{2+}) impliqués dans la production des radicaux oxygénés libres et des radicaux du monoxyde d'azote. Enfin, ces propriétés permettraient d'empêcher les dommages au niveau de l'ADN (Pasteur, 2013).

I-1-6-2-Activité anti-inflammatoire

L'EGCG inhibe les cytokines pro-inflammatoires qui activent la voie de signalisation par le facteur nucléaire kappa B (NF- κ B). Les gènes transcrits par cette voie sont responsables de la formation d'espèces réactives nitrosylées (ERN) et des prostaglandines E2 (PGE2), c'est-à-dire l'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS) et la cyclooxygénase-2 (COX-2) respectivement (**Vézina, 2012**).

I-1-6-3-Activité anticancéreuse

L'EGCG active des protéines kinases. La phosphorylation induite par ces protéines kinases mène à la dissociation de la protéine Keap1 du facteur nucléaire Nrf2. Cette dissociation peut aussi être induite par l'oxydation directe de Keap1 par l'EGCG. Ainsi, Nrf2 phosphorylé migre dans le noyau cellulaire. Une fois dans le noyau, Nrf2 phosphorylé se lie à au domaine bZIP. La transcription est activée par l'élément de réponse antioxydant (ARE). L'ARE est présent dans plusieurs enzymes aux actions antioxydantes et détoxifiantes. En somme, la capacité cellulaire de réparation des dommages nucléiques et protéiques est augmentée et la formation d'ERO est évitée. La diminution du stress oxydatif mène à l'inhibition des phases d'initiation et de promotion tumorale (**Vézina, 2012**).

I-1-6-4-Activité antidiabétique

Des études *in vitro* ont montré que les catéchines du thé préviennent l'hyperglycémie en augmentant l'activité de l'insuline et en protégeant les cellules β du stress oxydant (**Bolling et al., 2009**). Elles permettent également d'inverser ou de réduire les dommages du stress oxydant induit par les cytokines sur les cellules β (**Han, 2003**). Plus récemment, le rôle de thé comme modulateur de la sensibilité à l'insuline et facteur de prévention du diabète et de l'obésité, a été évoquée (**Kao et al., 2006 ; Wolfram et al., 2006**). Waltner-Law et al., (2002) ont montré que l'EGCG mime l'insuline en diminuant l'expression des gènes contrôlant la néoglucogenèse et donc en diminuant la production du glucose hépatique.

I-2- *Hyoscyamus albus* (Jusquiame blanche)

Hyoscyamus albus est une plante endémique qui pousse dans la région méditerranéenne appartenant à la famille des solanacées (Kadi et Yahia, 2007).

Le terme *Hyoscyamus* provient du grec « *Hyos* » signifiant « porc » et « *kyamos* » désignant « la fève ». La jusquiame est donc surnommée « fève aux porcs » (Couplan, 2012).

I-2-1- Description de *Hyoscyamus albus* L.

La jusquiame blanche est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, qui mesure de 30 à 90 cm de hauteur, à port dressé, a des feuilles de 5 à 10 cm de long, elles sont larges, ovales, collantes et de couleur vert clair (figure 4). Au printemps, la floraison, donne des fleurs de 1 à 3 cm de long, bilabiées, irrégulièrement lobées, de couleur jaune pâle (Strauss, 1989; Goullé et al., 2004). Le fruit est une capsule (pyxide) renflée à la base, dentelée au sommet et s'ouvrant par un clapet contenant de nombreuses petites graines ; cette plante a une odeur désagréable (Gaillard et al., 2001; Kadi, 2010).



(A)

(B)

(C)

Figure 4 : Quelques photographies personnelles de *Hyoscyamus albus* L. (A) les feuilles et les fleurs, (B) la plante entière, (C) la feuille.

I-2-2- Classification botanique de *Hyoscyamus albus* L.**Règne :** végétal**Embranchement :** Spermatophytes**Classe :** Dicotyledones**Ordre :** Tubiflorae**Famille :** Solanaceae.**Genre :** *Hyoscyamus***Espèces :** *Hyoscyamus albus* L. (Kadi, 2010).**I-2-3- Les noms vernaculaires de *Hyoscyamus albus* L.**

Les noms sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau I : Les noms vernaculaires d'*Hyoscyamus albus* L.

Noms scientifique	Nom français	Nom anglais	Nom arabe	Nom berbère
<i>Hyoscyamus albus</i>	Jusquiame blanche	White henbane	Sikran	Tailiout
Références	Goullé et al., 2004	Symon, 1981	Kadi, 2010	Hammiche et al., 2013

I-2-4- Composition chimique de *Hyoscyamus albus* L.

La plante, jusquiame blanche est utilisée en médecine traditionnelle à cause de sa composition chimique et ses effets bénéfiques, elle est caractérisée d'un point de vue phytochimique par des alcaloïdes 0.7 et 1.5 % dans la plante entière, ils sont représentés par de l'hyoscyamine et de la scopolamine, ce qui fait d'elle une plante très toxique (hallucinogène) (Gaillard et al., 2001; Jouzier, 2005).

Le genre *hyoscyamus* est riche en matière minérale de 15 à 20% (Bruneton, 2009). Elle renferme aussi d'autres métabolites secondaires qui sont: les flavonoïdes (rutine), coumarine, tannins, base volatile (tétraméthylputrescine), la choline (Chauhan, 1999; Bajaj et al., 2002; Bartman, 2013).

I-2-5- Usage thérapeutique

Hyoscyamus albus L. est l'une des principales espèces de la famille des solanaceae douée de large propriété thérapeutique vue sa richesse en alcaloïdes tropaniques.

L'hyoscyamine et l'atropine sont utilisés en médecine, par exemple, en ophtalmologie, dans le traitement des spasmes gastro-intestinaux, dans le traitement des intoxications aux organophosphorés et en anesthésie (**Doerk-Schmitz et al., 1994**).

Hyoscyamus albus L. possède aussi des propriétés analgésiques et sédatifs (**Mehar et al., 1998 et Fatemeh et al., 2012**).

Chapitre II

Les radicaux libres et les antioxydants

II-1- Les radicaux libres

II-1-2-Définition

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007).

Il peut aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre (Tessier et Marconnet., 1994).

II-1-2-Les espèces oxydantes en biologies

Les espèces radicalaires les plus importantes en biologie sont les espèces réactives d'oxygènes (ERO) et les espèces réactives de nitrogènes (ERN).

II-1-2-1- Espèces réactives de l'oxygène

En conditions physiologiques, le dioxygène, élément indispensable à la vie, produit au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées réactives (EOR) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOR renferment les espèces radicalaires et non radicalaires, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose, ...) (Nkhili, 2009).

➤ L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est un radical chargé négativement issu de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire (Cadenas *et al.*, 2000).



L'anion superoxyde est produit par presque toutes les cellules en aérobie, moyennant un apport d'énergie ou en présence d'enzyme (oxydases). Il peut constituer un radical à la fois oxydant et réducteur (Lacolley *et al.*, 2007).

➤ **Le radical hydroxyle (OH[•])**

Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques, Il peut être produit à la suite de diverses réactions :

- La réaction d'Haber Weiss :



- La réaction de Fenton :



Le radical hydroxyle est un oxydant très puissant, constituant certainement le radical libre le plus toxique en biologie (Ré et al., 2005).

➤ **L'oxygène singulet (¹O₂)**

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante (Rao P et al., 2011) :



➤ **Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)**

Il est produit en grande partie à partir du radical superoxyde en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est un produit plus stable que les radicaux superoxydes, c'est pourquoi il diffuse très facilement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule (Goudable et Favier, 1997).

II-1-2-2- Espèces réactives de l'azote

➤ Le monoxyde d'azote (NO^\bullet)

Le monoxyde d'azote (NO^\bullet) est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques. Or, le NO interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxydinitrite, composé extrêmement réactif et toxique. NO et peroxydinitrite interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés (**Barouki, 2006**).

➤ L'anion peroxydinitrite (ONOO^\bullet)

L'anion peroxydinitrite (ONOO^\bullet) est un oxydant très puissant, capable d'endommager de nombreuses molécules biologiques ou engendrer un radical nitrite (NO_2^\bullet) et le radical hydroxyle (HO^\bullet) (**Gutteridge, 1994**).

➤ Le dioxyde d'azote (NO_2^\bullet)

Le dioxyde d'azote (NO_2^\bullet) se forme à partir de la réaction dit radical peroxyde et le monoxyde d'azote (NO), très abondant dans les polluants atmosphérique (**Lee et al., 2004**).

II-1-3-Principales sources des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

II-1-3-1-Sources endogènes

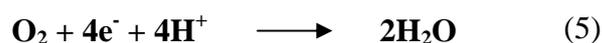
Dans l'organisme il ya de nombreuses sources d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dont l'importance varie selon les tissus. La réaction chimique de Fenton produit des ERO dans la cellule. Les autres sources cellulaires de ERO sont enzymatiques et non-enzymatiques (**Rao P et al., 2011**).

II-1-3-1-1-La mitochondrie

Dans les cellules, les mitochondries jouent un rôle essentiel dans la production d'énergie et la production des radicaux libres. Ce rôle consiste à convertir l'énergie libérée lors de l'oxydation des glucides, des lipides et des protéines en une forme d'énergie

directement utilisable par la cellule, l'adénosine triphosphate (ATP) (**Nouette-Gaulain et al., 2007**).

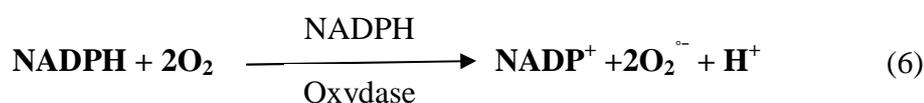
La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présents dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale.



Toutefois, cette chaîne de transport peut laisser « fuir » une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2 % de l'oxygène subit une réduction monoélectronique (**Gardès-Albert et al., 2003**).

II-1-3-1-2- La NADPH oxydase

La NADPH oxydase est une enzyme cellulaire initialement connue dans les cellules phagocytaires, à l'origine de la production extracellulaire d'anions superoxydes nécessaire à la destruction d'éléments étrangers qui seront finalement phagocytés. Il est maintenant reconnu que la NADPH oxydase joue un rôle prépondérant dans la production d' $\text{O}_2^{\bullet -}$ (**Beaudeau et al., 2006**).



II-1-3-1-3- La xanthine oxydase

Un autre système enzymatique capable de générer ($\text{O}_2^{\bullet -}$) par transfert d'un électron sur l'oxygène est la xanthine oxydase. Cette enzyme apparaît donc comme une source potentielle importante d'ERO (**Bonnefont-Rousselot et al., 2002 ; Baudin, 2006**).



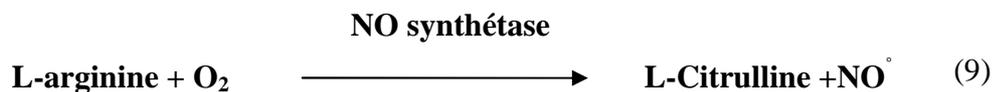
II-1-3-1-4- Les ions métalliques

Les ions métalliques comme le fer et le cuivre sont de remarquables promoteurs de processus radicalaire in vitro : ils transforment H_2O_2 en radical hydroxyle (OH^\bullet), encore plus toxique, et accélèrent la peroxydation lipidique. En situation physiologique, la concentration libre de fer ou de cuivre est particulièrement basse, ces métaux étant séquestrés par des protéines spécialisées, de sorte que cette réaction n'a pas lieu. En revanche, les destructions cellulaires (hémolyse, cytolysse hépatique, etc.) qui compliquent les agressions sévères entraînent la libération de ces métaux et aggravent probablement le stress oxydatif. (**Fontaine et al., 2002 ; Baudin, 2006**).



II-1-3-1-5- L'oxyde nitrique synthase

La NO synthase constitue une autre source de radicaux libres. Cette enzyme utilise l'arginine et l'oxygène en tant que substrat (**Margaill et al., 2005**). Elle convertit la L-arginine en NO et L-citrulline (**Beaudeux et al., 2006**).



La figure n°5 montre l'origine des différents mécanismes de formation des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène.

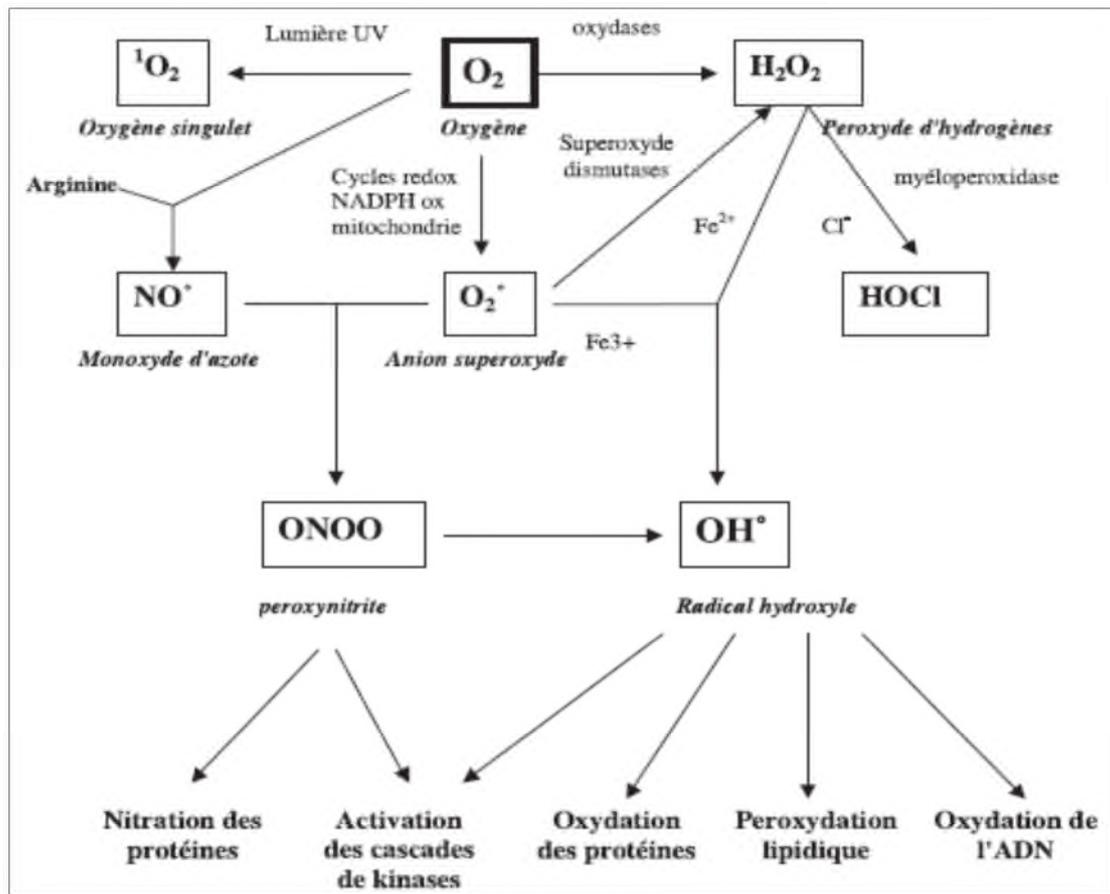


Figure 5: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

II-1-3-2-Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, polluants divers, produits chimiques ainsi que des contaminations par des pesticides ou des métaux lourds ou des carences nutritionnelles (Rao P *et al.*, 2011).

II-1-4-Rôle physiologique des radicaux libres

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de l'oxygène qui jouent un rôle important dans la destruction des micro-organismes et des cellules tumorales (Berger et Chioléro, 2001).

Le rôle physiologique de cette production pourrait avoir une fonction dans les processus de signalisation cellulaire et l'expression des gènes (Fontaine *et al.*, 2002).

Les radicaux libres jouent un rôle important dans la régulation de la voie d'activation des facteurs transcriptionnels et notamment dans la régulation de l'apoptose (**Huet et Duranteau., 2008**).

En effet, l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et son métabolite, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), sont capables d'induire des modifications fonctionnelles de multiples protéines impliquées dans l'homéostasie vasculaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2002**).

II-1-5-Stress oxydatif

II-1-5-1-Définition

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ROS, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ROS, soit à une diminution de la capacité de défenses antioxydantes (**Sies, 1991**).

II-1-5-2-Conséquences biochimiques du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides) (**Favier, 2003**).

➤ L'oxydation des protéines

Les acides aminés, en particulier les soufrés (la cystéine s'oxyde en cystine ou en acide cystéique et la méthionine en sulfoxyde ou sulfone), les basiques (histidine, lysine, arginine) en dérivés carbonylés ou hydroxylés semialdéhydes, et les aromatiques (la phénylalanine en orthotyrosine, le tryptophane en cynurénine, la tyrosine en DOPA, ou encore nitration par les peroxy-nitrites) peuvent être oxydés de façon irréversible par le radical OH^{\bullet} , ce qui modifie la structure des protéines et peut altérer leur antigénicité ou leur activité. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées (**Davies et al., 1999 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Baudin, 2006**).

➤ L'oxydation des lipides

Les membranes cellulaires riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) (acides linoléique, linoléique et arachidonique) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (**Pamplona et al., 2000**). L'attaque radicalaire des membranes

cellulaires phospholipidiques déclenche une réaction en chaîne appelé lipoperoxydation cellulaire (Lacolley et al., 2007). La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong et al., 2004), le mécanisme de la peroxydation est résumé dans la figure n°6:

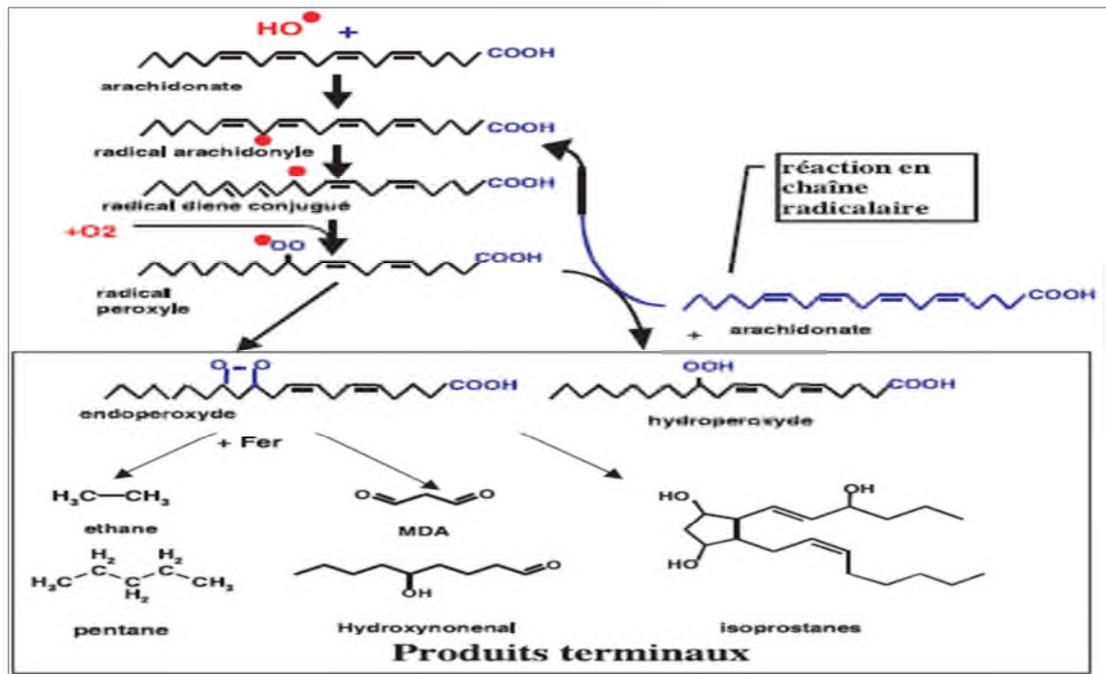


Figure 6: Mécanisme de la peroxydation lipidique et ses produits terminaux (Favier, 2003).

➤ L'oxydation de l'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Les radicaux $O_2^{\bullet-}$ et OH^\bullet provoquent des lésions de l'ADN (figure 7). Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

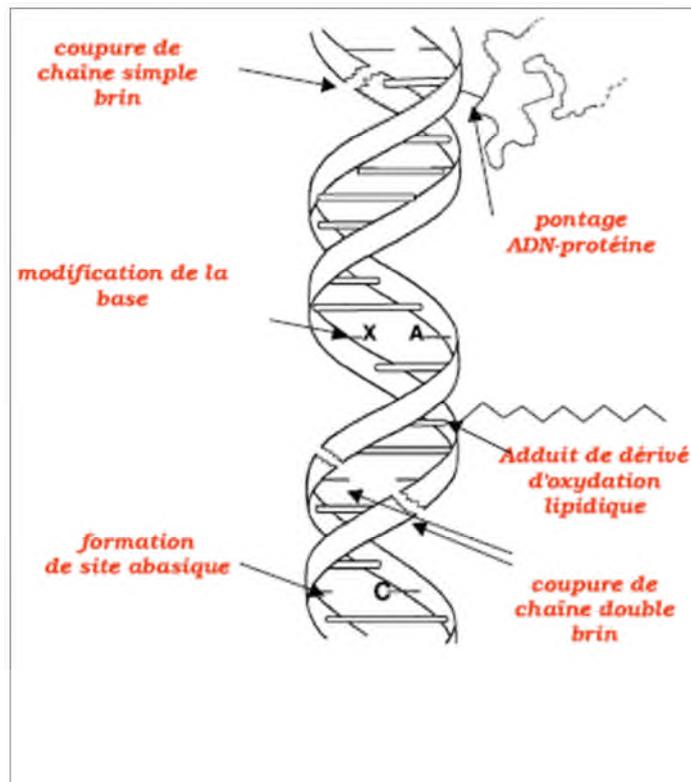


Figure 7: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

II-1-5-3-Pathologies liées au stress oxydant

Une production importante de ERO joue un rôle dans la pathogénèse de nombreuses maladies (figure 8), ils sont impliqués dans les maladies neurodégénératives (Alzheimer, parkinson), les cancers, le diabète, l'hypertension et les maladies cardiovasculaires (Madamanchi et al., 2005 ; Pham-Huy et al., 2008). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (Ghisolfi-Marque et al., 1996;Favier, 2003).

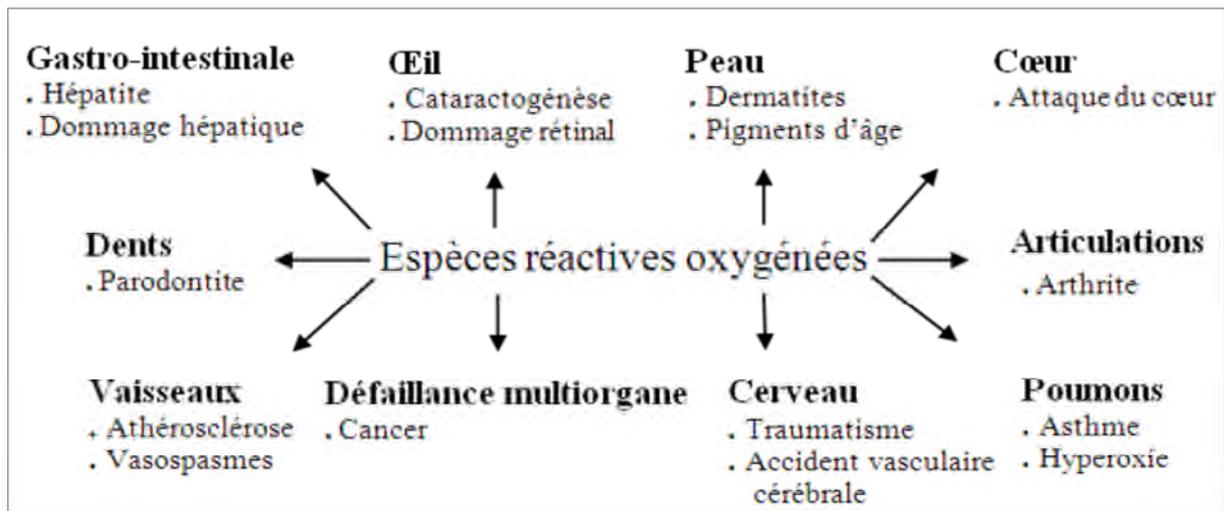


Figure 8: Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées (Lee *et al.*, 2004).

II-2-Les antioxydants

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces qui, d'une manière générale servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser les dommages oxydatifs, appelés antioxydants (Wassmann *et al.*, 2004 ; Tang et Halliwell, 2010).

II-2-1-Définition

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Fontaine *et al.*, 2002).

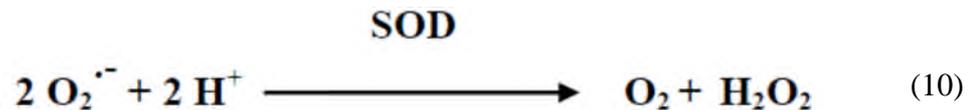
II-2-2-Les systèmes de défense antioxydants

II-2-2-1-Système antioxydants enzymatique

Pour protéger ses tissus contre toute agression radicalaire, l'organisme humain possède des systèmes enzymatiques, tel que les superoxydes dismutases et la catalase qui jouent un rôle de protection, ainsi que les glutathions-peroxydes (GSH, Px) qui jouent un rôle de détoxication (Avissar *et al.*, 1989).

II-2-2-1-1-La superoxyde dismutase (SOD)

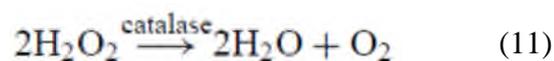
La superoxyde dismutase (EC: 1.15.1.1) est une métalloenzyme qui catalyse la dismutation des ions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) en dioxygène (O_2) et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), selon la réaction suivante (Ghisolfi-Marque *et al.*, 1996 ; Anderson *et al.*, 1997 ; Alfonso *et al.*, 2007).



Il existe plusieurs isoenzymes de SOD: SOD à manganèse (Mn-SOD) dans la mitochondrie ; SOD à cuivre (Cu) ou à zinc (Zn) dans le cytoplasme et les mitochondries et des formes Cu/Zn-SOD extracellulaire (cytosol et les érythrocytes) et la SOD ferreux (Fe-SOD) (Goudable et Favier, 1997 ; Riché, 2006 ; Valdivia *et al.*, 2009 ; Perry *et al.*, 2010).

II-2-2-1-2- La catalase (CAT)

La CAT (EC: 1.11.1.6) est une enzyme tétramérique hémunique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Matés *et al.*, 1999 ; Matés, 2000).

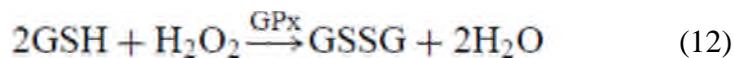


Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, les érythrocytes, les hépatocytes et les reins (Durand et Beaudeau, 2011).

II-2-2-1-3-La glutathion peroxydase et réductase

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries (Lacolley, 2007 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013). La glutathion peroxydase est une sélénenzyme (Se-GPx EC : 1.11.1.19), elle réduit d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécules d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (réaction 12, 13). Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion

(GSH), celle-ci se transforme en glutathion disulfure (GSSG) (Russo-Marie *et al.*, 1998 ; Césarini, 2004 ; Valko *et al.*, 2006).



La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (Martinez-Cayuela, 1995 ; Sorg, 2004) selon la réaction suivante :



La figure 9 récapitule la formation des différents radicaux libres de l'oxygène et de nitrogène, leurs actions délétères, ainsi que le mode d'action des différents systèmes de défense cellulaire

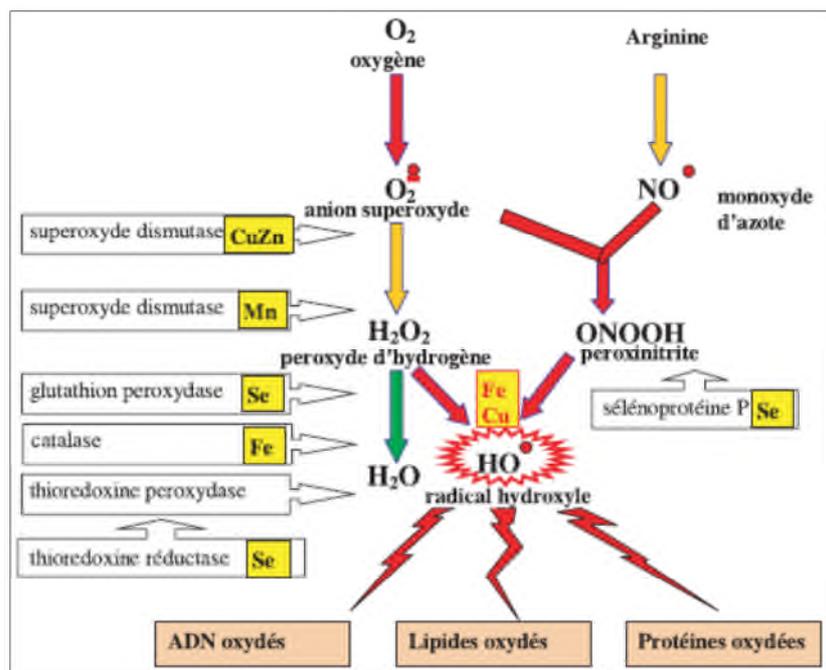


Figure 9: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

II-2-2-2-Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques peuvent être classés en molécules liposolubles (vitamine E, caraténoides) ou hydrosolubles (vitamine C) (**Piquet et Hébuterne, 2007**). Selon leurs caractéristiques physico-chimiques, ils auront une localisation cellulaire préférentielle : les membranes cellulaires pour les substances liposolubles et le cytosol et/ou le milieu extracellulaire pour les substances hydrosolubles (**Vergely et Rochette, 2003**) ; à ceux là s'ajoutent quelques oligo-éléments (zinc, sélénium) (**Papazian et Roch, 2008**). Ils seront particulièrement efficaces sur les radicaux libres présents dans chaque type de milieu, respectivement (figure n°6).

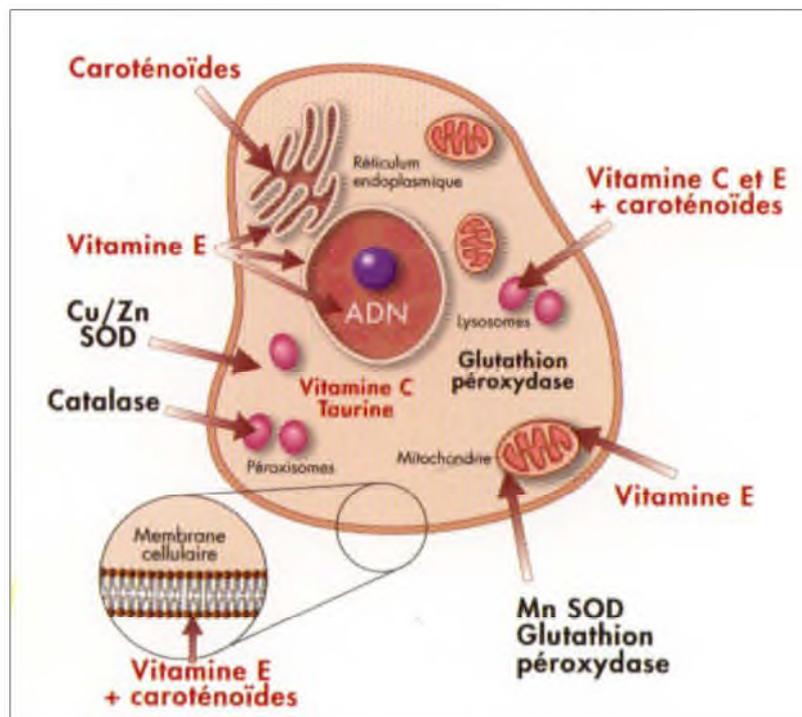
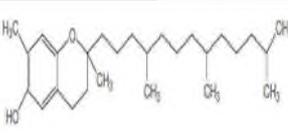
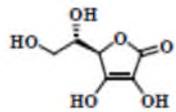
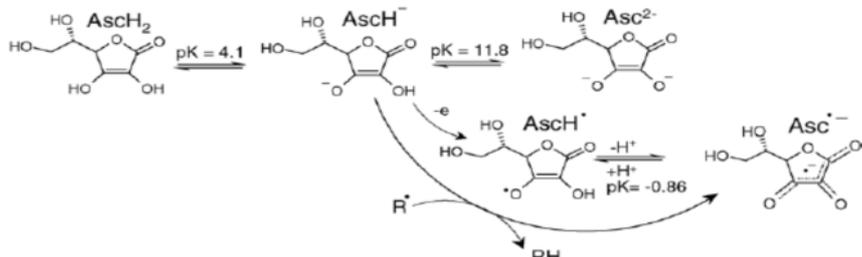


Figure 10: Réparation des principales défences antioxydantes dans la cellule (**Opara, 2002**).

II-2-2-2-1-Les vitamines

Tableau II : les principales vitamines impliquées dans le système antioxydant non enzymatique.

vitamines	Structure chimique	Site d'action	Fonctions
Vitamine E (α -tocophérol)	 (Evans et al., 2002)	Membranes lipidiques, fluides extracellulaires (Vergely et Rochette, 2003)	Inhibe la peroxydation lipidique (Joachim et al., 2004)
	Réaction		
	$RO_2 + \alpha\text{-TH} \longrightarrow RO_2H + \alpha\text{-T}^\bullet$ (15) (Gardèse-albert et al., 2003)		
Vitamine C (acide ascorbique)	 (Gardèse-albert et al., 2003)	Fluides intra et extracellulaire (Evans et al., 2002)	Capte les anions superoxydes, l'oxygène singulet Régénère la vitamine E Inhibe la peroxydation lipidique (Vertuani et al., 2004)
	Réaction		
	 (Valko et al., 2006)		
Bêta carotène (la provitamine A)	 (Ozhogina et Kasaikina, 1995)	Membranes des tissus. (Opara, 2002)	Neutralise l'oxygène singulet et le radical peroxyde. (Laguerre et al., 2007)
	Réaction		
	$^1O_2 + \beta\text{-carotène} \rightarrow ^3O_2 + \beta\text{-carotène}^\bullet$ (16) $ROO^\bullet + \beta\text{-carotène} \rightarrow ROO\text{-}\beta\text{-carotène}^\bullet$ (17) (Laguerre et al., 2007)		

II-2-2-2- les oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (**Fontaine et al., 2002**).

II-2-2-3-Les composés phénoliques

II-2-2-3-1-Définition et structure

Les polyphénols sont les antioxydants naturels les plus abondants dans notre alimentation. Ils sont principalement apportés par les fruits et légumes, les céréales, le thé et le café (**D'Archivio, 2007**).

Ces polyphénols (8000 molécules connues) sont une des principales classes de métabolites secondaires des plantes. Leurs structures et fonctions très diverses. Ils possèdent, au minimum, un cycle aromatique portant un à plusieurs groupes hydroxyles (**Mehinagic, 2011**).

II-2-2-3-2-Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies bio-synthétiques :

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (**Martin et Andriaantsitohaina, 2002**).
- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Macheix, 1996**).

II-2-2-3-3-Les principales classes des composés phénoliques

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques (Martin et Andriaantsitohaina, 2002).

➤ Les phénols simples et les acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

- **Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque:** les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (Bruneton, 1993).
- **Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique :** la plupart des acides phénols en C₆-C₃ (Acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large; les autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents (Cowan, 1999 ; Bruneton, 1993).

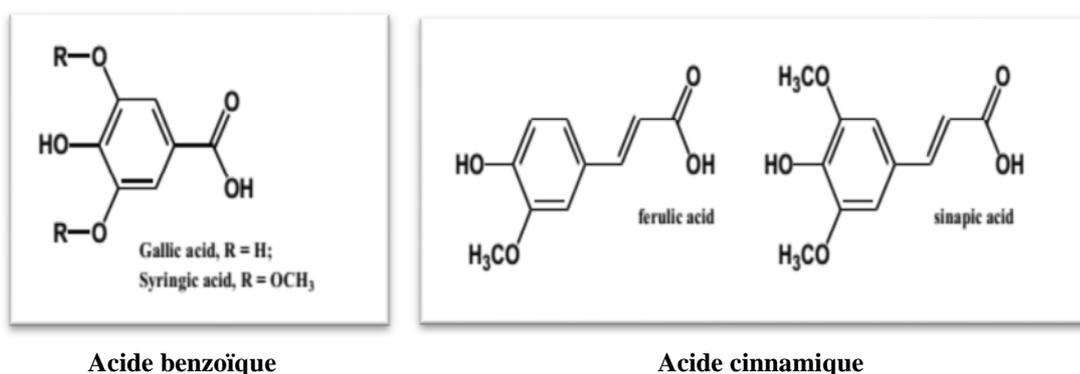


Figure 11: Structures chimiques d'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Tsao, 2010).

➤ Les tanins

Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. On distingue: les tanins hydrolysables et condensés (Alkurd et al, 2008).

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

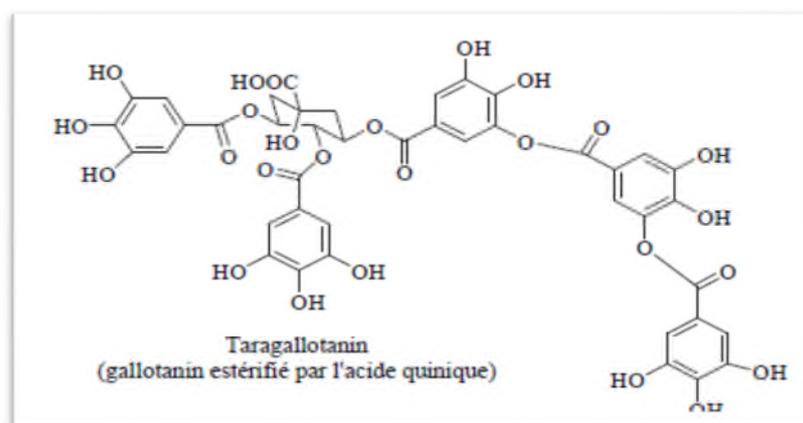


Figure 12: Structure chimique des tanins hydrolysables (Bruneton, 2009).

- **Les tanins condensés (proanthocyanidines):** qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. (Bruneton, 1999).

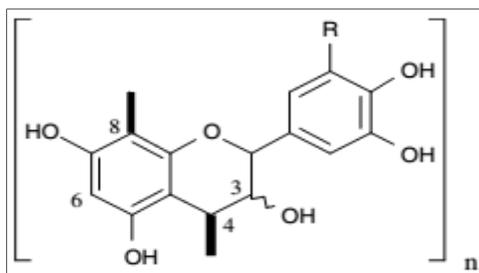


Figure13: Les tannins condensés (Haslam, 2007).

➤ Les flavonoïdes ($C_6-C_3-C_6$)

La majorité des flavonoïdes ont une structure chimique semblable: deux anneaux aromatiques liés par trois atomes de carbone qui forment un composé hétérocyclique oxygéné (Charles et Benbrook, 2005).

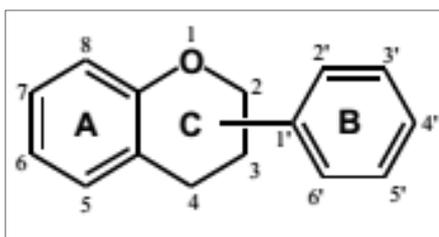


Figure 14: Structure de base des flavonoïdes (Tsao, 2010).

➤ Classification

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons. En basant sur leur squelette, les flavonoïdes se divisent en six sous-catégories : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanols (catéchines et proanthocyanidines), les flavanones et les anthocyanidines (Edenharder et Grünhage, 2003 ; Yao et al, 2004).

Tableau III : Structures des différentes catégories des flavonoïdes (Havsteen, 2002; Edenharder et Grünhage, 2003; Haslam, 2007).

Classe	Structure chimique
Flavones	
Flavanones	
Flavonols	
Isoflavones	
Flavanols	
Anthocyanidines	

II-2-2-3-4-Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al*, 2000 ; Ksouri *et al*, 2007). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox

en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

II-2-2-3-5-Mécanismes antioxydants des polyphénols

Plusieurs modes d'action de l'activité anti-oxydante des polyphénols ont été décrits :

➤ Chélation des métaux de transition

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+) (Laguerre *et al.*, 2007). La chélation fait intervenir les groupes hydroxyles en position 3' et 4' sur le cycle B, l'hydroxyle en 3 et le groupe carbonyle en 4, l'hydroxyle en 5 et le groupe carbonyle en 4 (figure 15) (Pietta, 2000).

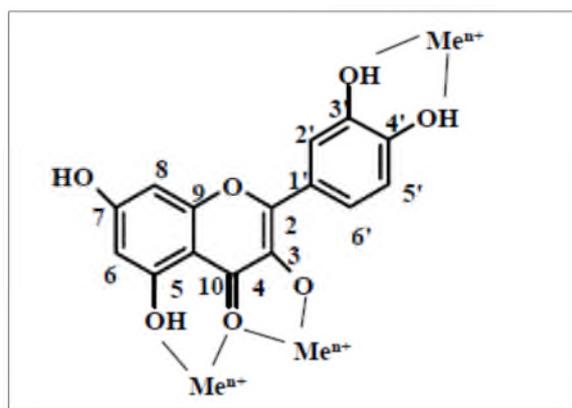


Figure15: Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métallique (Me^{n+}) (Pietta, 2000)

➤ Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du $\text{O}_2^{\cdot-}$ et d'autres EOR, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipoxygénase, monooxygénase microsomal, et la glutathion S-Transferase. Les flavonoïdes ayant une moitié catéchol sur le cycle B inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase (Pietta, 2000 ; Densiov et Afanas'ev, 2005).

➤ **Piégeage des radicaux libres**

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. À cause de leur faible potentiel redox (**Javanovic et al., 1994**). Les flavonoïdes (Fl-OH) sont, thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène (**Van Acker et al., 1996**). Le radical résultant (Fl-O[•]) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable (figure n° 16).

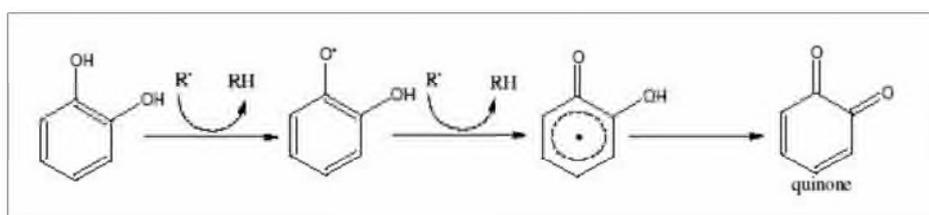


Figure 16: Piégeage des radicaux libres (R[•]) par les polyphénols (**Pietta, 2000**).

Partie pratique

Matériel et méthodes

I-Matériel et méthodes

I-1-Matériel végétal

L'étude est effectuée sur les feuilles de *Camellia sinensis* qui ont été récoltées en Septembre 2013 et celle de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* en Février 2014, de différentes régions de la willaya de Béjaia (figure 17).

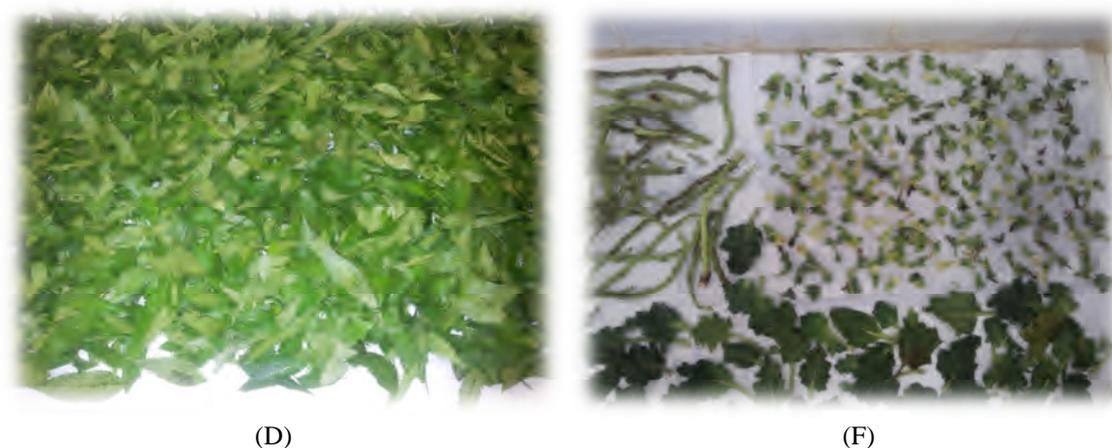


Figure 17 : Photographies personnelles des feuilles de *Camellia sinensis* (D) et de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* (F)

I-2-Séchage et broyage

Les feuilles de *Camellia sinensis*, fraîchement récoltées, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré, la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* a été séchée à l'air libre puis pendant 24h à l'étuve à 40⁰C. Le broyage est effectué à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre très fine.

I-3-Préparation des extraits

Le protocole d'extraction suivi dans cette étude est celui de **Chiang et al., (1994)**, ayant subi quelques modifications. Le principe de cette méthode se base sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénoliques en utilisant trois solvants de différentes polarités : l'éthanol, l'eau et le chloroforme. Les étapes d'extraction qui suivront ont été réalisées à température ambiante.

Il s'agit de mettre 130 g de poudre dans 780 ml d'éthanol 96 %, avec un rapport de 1/6 pour *Camellia sinensis* et de 150 g de poudre dans 600 ml d'éthanol 96 %, avec un rapport de 1/4 pour *Hyoscyamus albus*, et de les laisser macérer sous agitation magnétique pendant 2h et 24heurs respectivement.

Après décantation de la suspension pendant 24 heures, l'extrait humide a été prélevé à l'aide d'une pipette et filtré à travers un filtre en papier puis versé dans une boîte de pétri, qui sera réservé pour les tests, et le reste dans un bécher qui servira pour la deuxième extraction. Finalement, l'extrait humide a été séché à l'étuve à 40⁰C jusqu'à atteindre un poids constant de l'extrait sec.

La deuxième étape consiste à dissoudre l'extrait sec d'éthanol dans un mélange de solvants : le chloroforme et l'eau (3/1, v/v) pour *Camellia sinensis* et *Hyoscyamus albus*. Après agitation et décantation pendant 24h, deux phases, organique et aqueuse, ont été observées puis récupérées et séchés (figure 18 et 19).

Il est à noter, qu'après l'extraction, six extraits ont été obtenus. Le taux d'extraction de chaque extrait sec à été calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Taux d'extraction} = [(P - P_0) / \text{poids de la poudre}] \times 100$$

Où :

P₀ : Poids vide de la boîte de pétri.

P : Poids après évaporation du solvant.

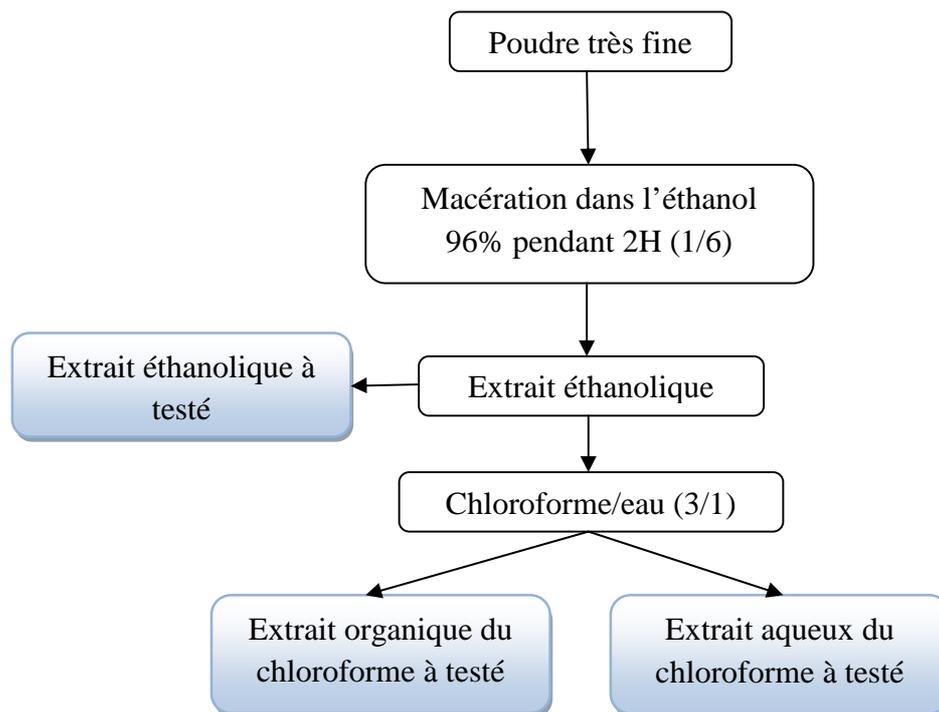


Figure 18 : Schéma d'extraction de *Camellia sinensis* (Chiang et al., 1994).

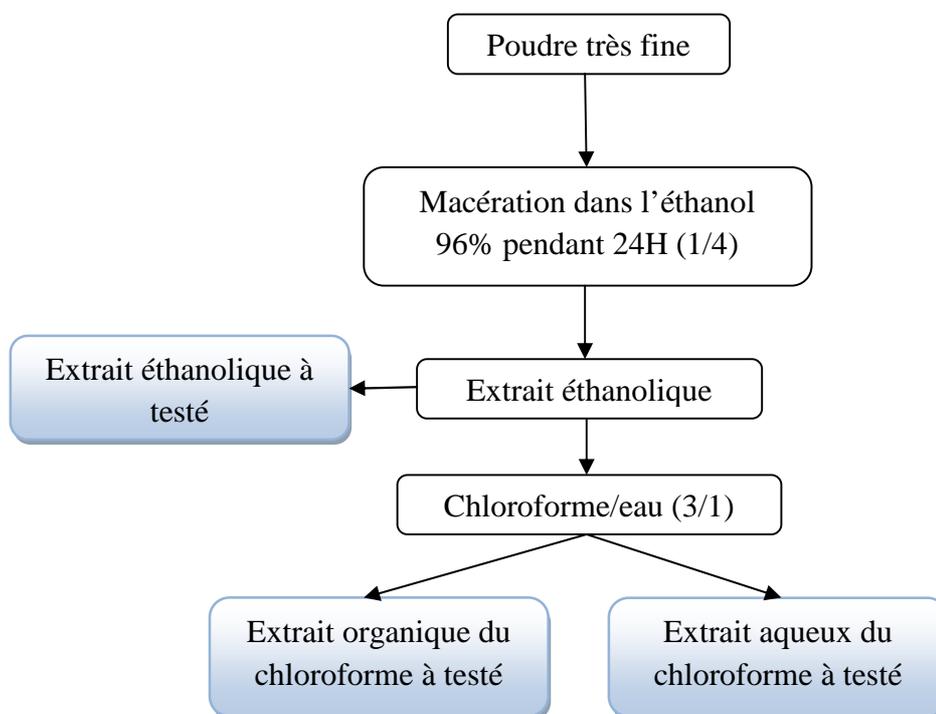


Figure 19 : Schéma d'extraction de *Hyoscyamus albus* (Chiang et al., 1994).

I-4-Dosage des composés phénoliques

Dans le but de déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*, trois protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en pro-anthocyanidines.

I-4-1-Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode citée par **Yap et al., (2009)** avec légères modifications (figure 20).

La teneur phénolique totale est déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Visible en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif dans une solution alcaline (**Vuorela, 2005**).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

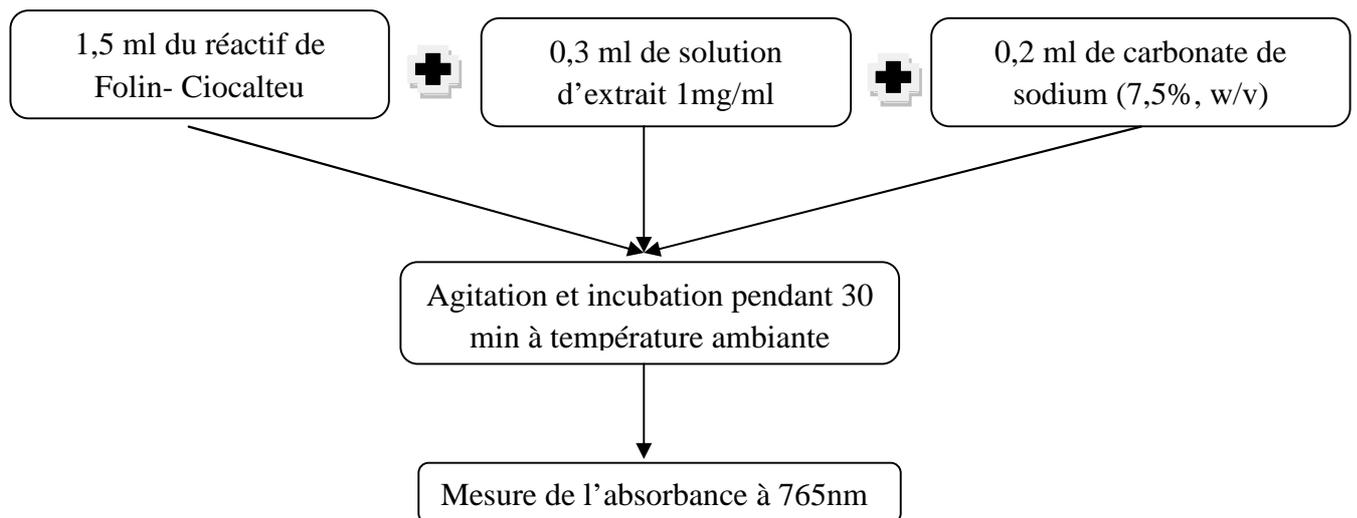


Figure 20 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (**Yap et al., 2009**).

N.B : Un blanc d'extrait a été préparé en mélangeant 0,3 ml de méthanol avec 1,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 0,2 ml de solution de carbonate de sodium.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer les concentrations en phénols totaux des extraits exprimées en mg équivalent acide gallique /g d'extrait.

I-4-2-Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits est effectuée par la méthode de **Mimica-Dukic, (1992) in Abdou Bouba et al., (2010)** (figure 21).

Ce protocole se base sur la formation d'un complexe jaunâtre aluminium-flavonoïde par chélation des métaux (fer et aluminium), qui est due à la présence des groupements hydroxyles libres (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

N.B : Un blanc d'extrait a été préparé en mélangeant 2 ml de solution d'extrait avec 1 ml d'eau distillée.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme standard et la concentration a été exprimée en mg équivalent quercétine /g d'extrait.

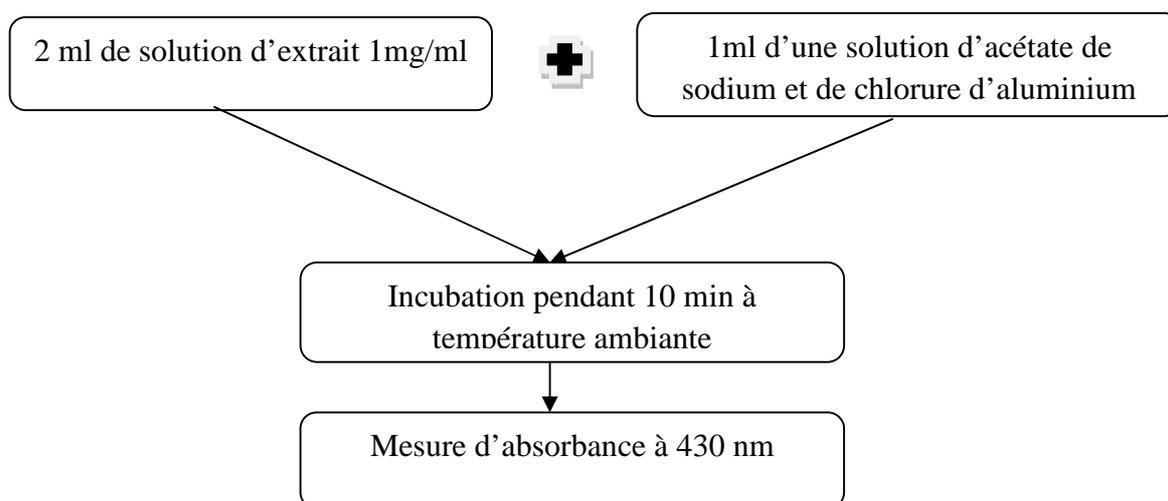


Figure 21 : Protocole de dosage des flavonoïdes (**Abdou Bouba et al., 2010**).

I-4-3-Dosage des tanins condensés (pro-anthocyanidines)

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode citée par **Sun et al., (1998)** in **Oyedmi et Afolayan, (2011)** avec quelques modifications (figure 23). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (Figure 22) (**Ba et al., 2010**).

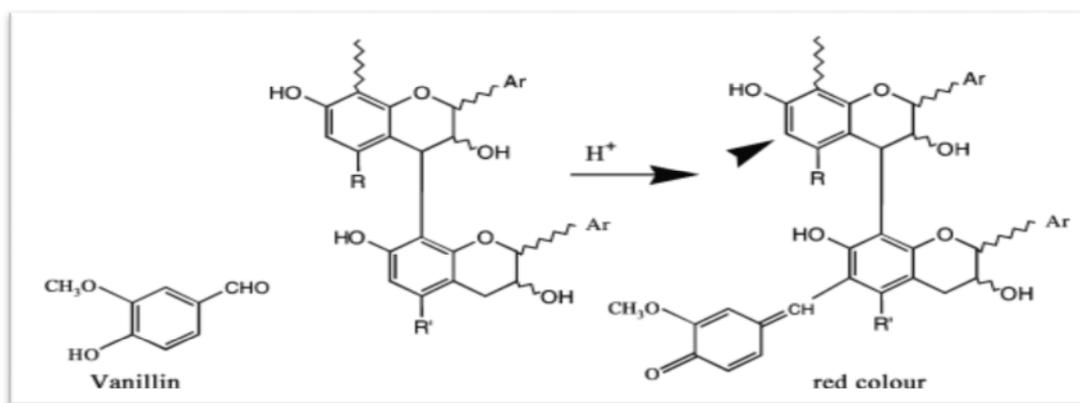


Figure 22: Réaction chimique de la vanilline avec les tanins condensés (**Schofield et al., 2001**).

N.B : Un blanc d'extrait a été préparé en mélangeant 0,5 ml de solution d'extrait avec 3 ml de méthanol et 1,5 ml d'HCl.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine comme standard et la concentration a été exprimée en mg équivalent catéchine /g d'extrait.

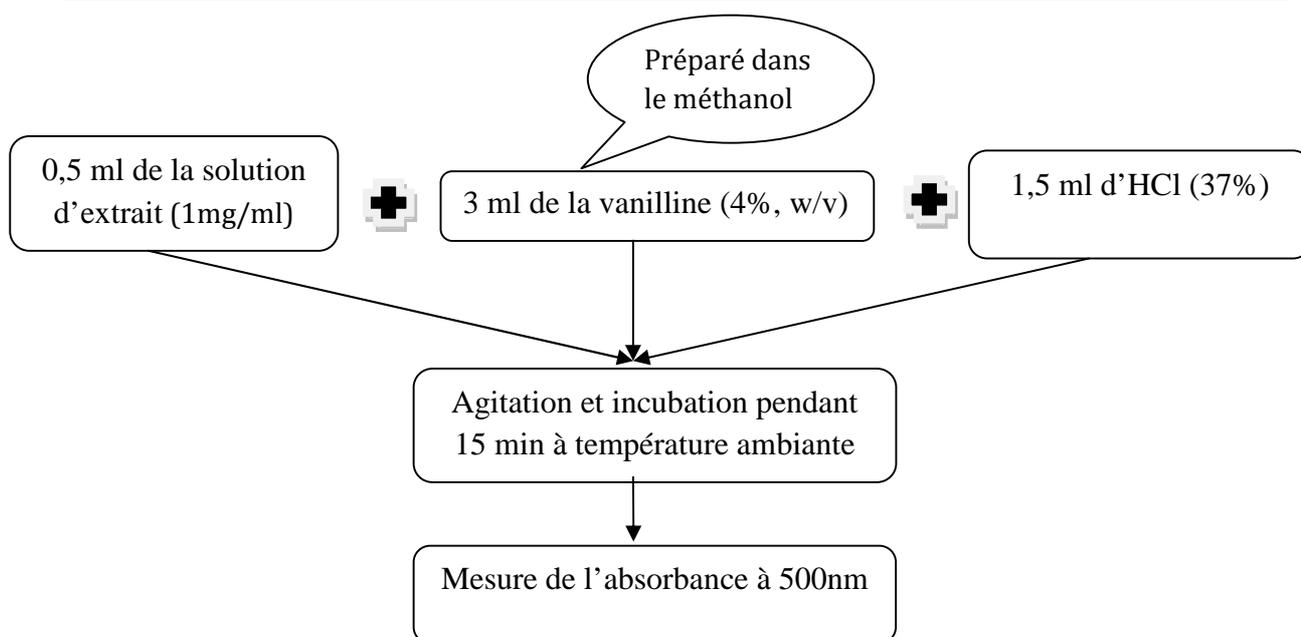


Figure 23 : Protocole de dosage des pro-antocyanidines (Oyedmi et Afolayan, 2011).

I-5-Activités anti-oxydantes des extraits

L'activité anti-oxydante a été évaluée en testant l'activité scavenging du radical DPPH°, ABTS^{•+} et le pouvoir réducteur des extraits.

I-5-1-Activité scavenging du radical DPPH°

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus* a été réalisée en mesurant l'activité scavenging du radical DPPH°. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH° (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune (figure 24) (Athamena et al., 2010).

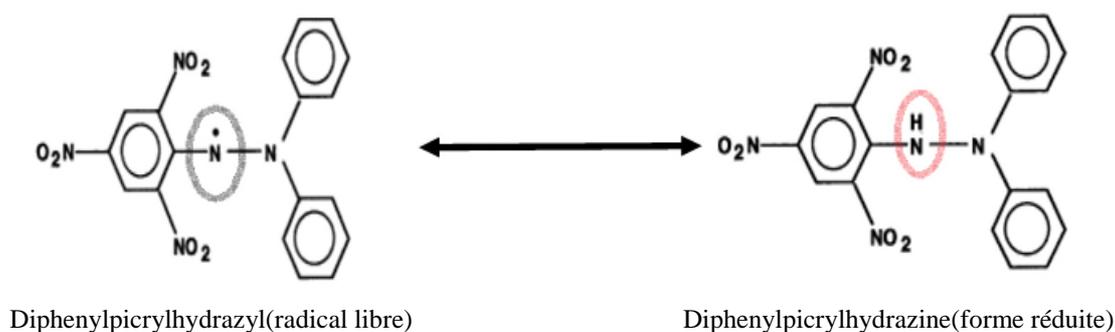


Figure 24: Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

La mesure de l'activité scavenging du radical DPPH° a été effectuée en suivant le protocole de **Hemalatha et al., (2010)**.

Une solution de DPPH (0,1 mM) a été préparée dans du méthanol, et 1 ml de cette solution a été ajouté à 3 ml de solution d'extrait à différentes concentrations. Après incubation pendant 30 min et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

Un contrôle a été préparé en remplaçant la solution d'extrait par du méthanol.

Un blanc pour chaque extrait a été préparé en mélangeant 1 ml de méthanol avec 3 ml de solution d'extrait.

L'acide ascorbique et la BHA ont été utilisés comme standards et à différentes concentrations. Le pourcentage de l'activité scavenging du radical DPPH° de chaque extrait a été calculé comme suit :

$$\% \text{ de l'activité scavenging du radical DPPH}^\circ = [(Ac-(At-Ae)/Ac] \times 100$$

Où :

Ac : Absorbance du contrôle ; c'est l'absorbance du blanc contenant seulement le DPPH.

At : Absorbance du test ; c'est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'extrait.

Ae : Absorbance de l'extrait ; c'est l'absorbance de la solution de l'extrait sans le DPPH.

I-5-2-Activité scavenging du radical ABTS^{o+}

Le test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{o+} (2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (figure 25) (**Re et al., 1999**).

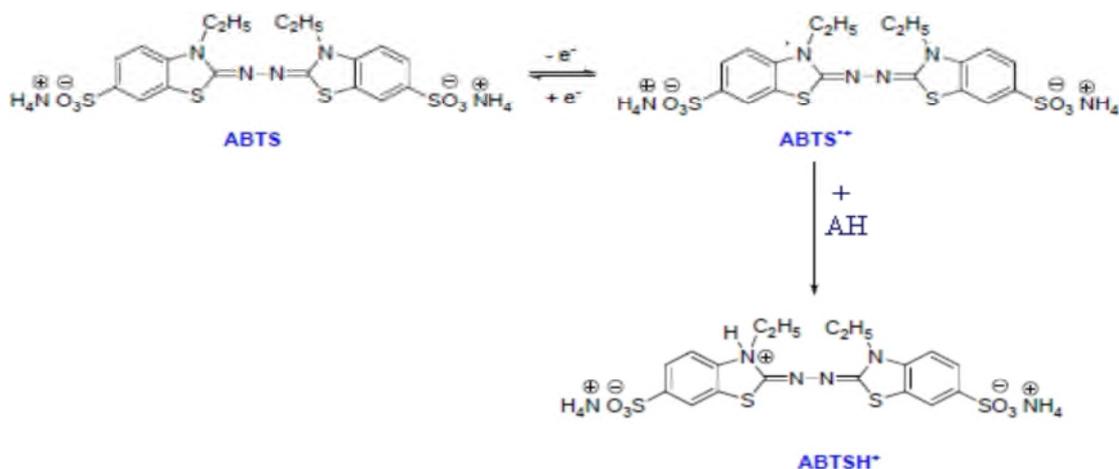


Figure 25: Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H (Marc et al., 2004).

Le protocole suivie est celui de **Nenadis et al., (2004)** in **Le et al., (2007)** avec quelques modifications.

Une solution de l'ABTS (7 mM) a été préparée en mélangeant 72 mg de l'ABTS avec 13,24 mg de persulfate de potassium (2,45 mM) dans 20 ml d'eau distillée, et laissée incuber pendant 16h à l'obscurité. La solution d'ABTS^{•+} (7 mM) est diluée avec d'eau distillée jusqu'à atteindre une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. 1,9 ml de cette solution a été ajouté à 100 µl de solution d'extrait à différentes concentrations. Après incubation pendant 7 min et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 734 nm. Le blanc a été préparé en remplaçant la solution d'extrait par du méthanol.

Le Trolox (acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylique), analogue de la vitamine E a été utilisé comme standard à différentes concentration (**Miller et al., 1997**).

Le pourcentage de l'activité scavenging de l'ABTS^{•+} de chaque extrait a été calculé comme suit :

$$\% \text{ de l'activité scavenging de l'ABTS}^{\bullet+} = [Ac-At/Ac] \times 100$$

Où :

Ac : absorbance du blanc.

At : absorbance du test.

I-5-3-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus* a été déterminé selon le protocole d'Oyaizu (1986) in Ogunlana et Ogunlana, (2008) avec quelques modifications.

Les extraits qui possèdent un potentiel réducteur réagissent avec le Ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former le Ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}), qui réagit ensuite avec le Chlorure ferrique (FeCl_3) pour donner un complexe ferrique ferreux mesurable à 700 nm (Jayanthi et Lalitha, 2011).

1ml de solution d'extrait (100 $\mu\text{l}/\text{ml}$) a été mélangé avec 2,5 ml de solution tampon phosphate (0,2 M ; pH=6,6) et 2,5 de solution de Ferricyanure de potassium à 1% ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis les tubes à essais ont été retirés en leurs rajoutant 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% (TCA).

A 2,5 ml du surnageant ont été ajoutés 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de FeCl_3 à 0,1% et la mesure de l'absorbance a été effectuée à 700 nm. Un blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol, et le BHA a été utilisée comme standard. Le pouvoir réducteur des extraits augmente avec l'augmentation de l'absorbance.

I-6-Analyse statistique

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous la forme : moyenne \pm écartype. Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le test Anova. Les différences ont été considérées d'être significative à $\alpha = 0,05$. Les valeurs des IC_{50} ont été calculées en utilisant le logiciel Origine 8.

Résultats et discussion

II-Résultats et discussions

II-1-Extraction

Le taux d'extraction des composés phénoliques dépend de la méthode, la nature du solvant, la température et de la taille des particules constituant la poudre de la plante (Chavan *et al.*, 2000 ; Goli *et al.*, 2004 ; Mukhopadhyay *et al.*, 2005).

Dans notre travail, afin d'obtenir des combinaisons phénoliques distinctes, une extraction liquide-solide sélective a été réalisée en utilisant plusieurs solvants de différentes polarités, à savoir, des solvants polaires : l'eau, l'éthanol et un solvant apolaire, le chloroforme. Commencer l'extraction par l'éthanol est intéressant car ce dernier représente un solvant permettant la dissolution de la majorité des composés phénoliques (Cowan, 1999). Une fois les extraits secs, le calcul des taux d'extraction dans chaque étape a donné les résultats suivants :

Tableau IV : Les pourcentages d'extraction des extraits de *Camellia sinensis*.

Extrait	Taux d'extraction
Extrait éthanolique	6.34 %
Extrait du chloroforme	24.60 %
Extrait aqueux du chloroforme	24.92 %

Tableau V : Les pourcentages d'extraction des extraits de *Hyoscyamus albus*.

Extrait	Taux d'extraction
Extrait éthanolique	4.31 %
Extrait du chloroforme	52.02 %
Extrait aqueux du chloroforme	34.82 %

D'après les taux d'extractions obtenus dans ce tableau, nous constatons que l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* est plus riche en composés phytochimiques. En effet, Farhoosh *et al.*, (2007), ont trouvé un pourcentage de 14.53 ± 8.67 % pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Camellia sinensis* contrairement à *Hyoscyamus albus* qui possède un taux faible.

En revanche, pour *Hyoscyamus albus*, c'est l'extrait organique du chloroforme qui a montré le pourcentage d'extraction le plus élevé ce qui pourrait supposer la richesse de cette plante en composés phytochimique de polarité réduite.

Par ailleurs, les extractions chloroforme/eau ont donné des phases aqueuses légèrement concentrées que les phases organiques dans le cas de *Camellia sinensis*, contrairement à ce qu'il en est pour *Hyoscyamus albus*, où la phase organique du chloroforme est nettement plus concentrée que la phase aqueuse correspondante. Cette différence dans les taux d'extraction est due une différence dans la nature de la composition chimique en particulier les composés phénolique, l'âge de la plante et les conditions climatiques (Bansal et al., 2013). Ainsi, *Camellia sinensis* semblerait être plus riche en composés de polarité élevée dont les composés phénoliques, étant donné leur richesse en groupements hydroxyles (Benzie et al., 1999).

II-2- Dosage des composés phénolique

II-2-1-Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et *Hyoscyamus albus*, exprimées en mg équivalent acide gallique / g d'extrait, sont représentées dans la figure ci-dessous :

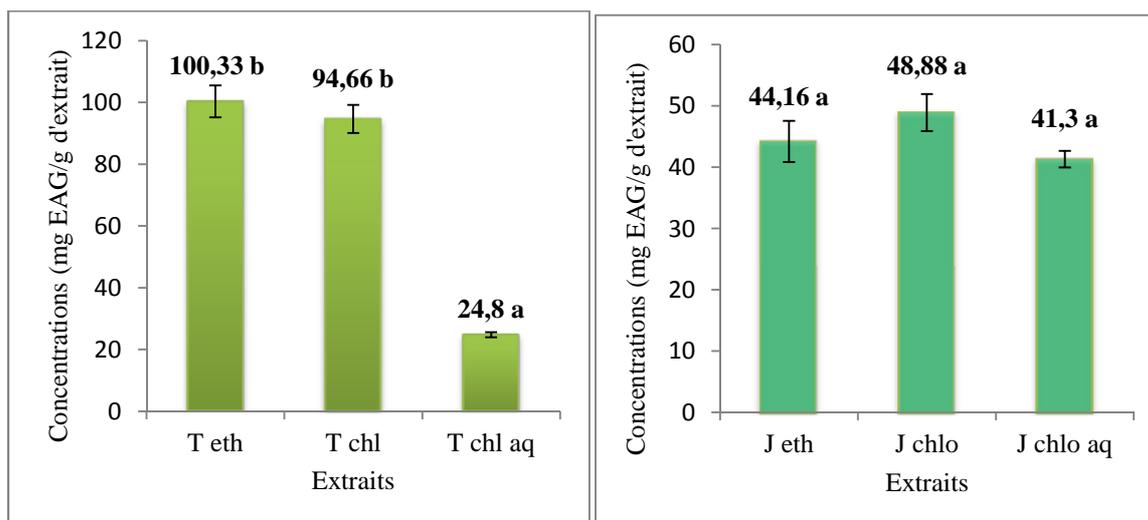


Figure 26: Teneurs en phénols totaux dans les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* (T) et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* (J).

Si on calcule le taux en phénols totaux de l'extrait brut par rapport à un gramme de poudre, on obtient une concentration de 6,35 mg équivalent acide gallique (EAG)/g de poudre de *Camellia sinensis* et une concentration de 1,9 mg EAG/g de poudre pour *Hyoscyamus albus*, ces taux nous permettent de classer les deux plantes d'après une étude faite par **Kähkönen et al., (1999)**, qui ont montré que la quantité en phénols totaux variait beaucoup dans les plantes et sont classées de 0,2 à 155,3 mg EAG/g de poudre. *Camellia sinensis* et *Hyoscyamus albus* font partie des plantes riches en polyphénols.

D'après les figures n° 26 et 27 qui suivront le thé vert, nous remarquons que l'extrait organique est plus riche en tannins condensés et composés phénoliques que l'extrait aqueux.

La figure n° 26 montre que le meilleur taux en phénols totaux pour *Camellia sinensis* est donné par l'extrait éthanolique ($100,33 \pm 5,14$ mg EAG/g d'extrait), cela semble évident étant donné que c'est l'extrait brut et qu'il renferme la totalité des composés phénoliques. Ce résultat est semblable à celui obtenu par **Yashin et al., (2011)**, qui ont montré que la concentration d'un extrait des feuilles de *Camellia sinensis* varie de 65,8 à 106,2 mg EAG/g d'extrait.

On constate aussi que c'est l'extrait organique de *Hyoscyamus albus* ($48,88 \pm 3,04$ mg EAG/g d'extrait) qui a donné plus que l'extrait aqueux du chloroforme ($41,3 \pm 1,35$ mg EAG/g d'extrait). Cela peut être expliqué par la présence des tannins hydrolysables (non mesurés), qui constituent des structures polycycliques d'où leur caractère légèrement hydrophobe donc, se solubilisant dans les solvants organiques.

Il est à signaler que la concentration en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* est légèrement inférieure ($44,16 \pm 3,35$ mg EAG/g d'extrait) par rapport à l'extrait organique; cela pourrait être expliqué par le fait que les composés phénoliques n'ont pas été entièrement révélés par le réactif du Folin-Ciocalteu dans l'extrait éthanolique, car il y aurait un encombrement stérique résultant de la présence de macromolécules (lipides).

II-2-2- Les pro-anthocyanidines

Les résultats de dosage des pro-anthocyanidines dans les feuilles de *Camellia sinensis* et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*, exprimées en mg équivalent catéchine (EC) / g d'extrait, sont représentées dans la figure ci-dessous :

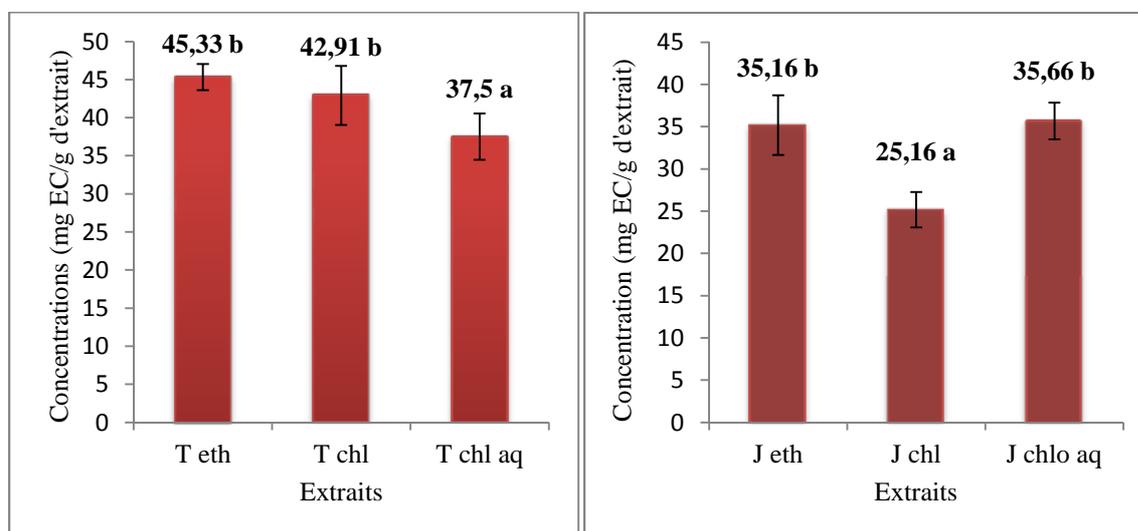


Figure 27: Teneurs en pro-anthocyanidines dans les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* (T) et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* (J).

Les résultats de la figure 27 révèlent que les deux plantes présentent des teneurs appréciables en pro-anthocyanidines, allant de $(37,5 \pm 3,04)$ à $(45,33 \pm 1,73)$ mg équivalent catéchine (EC)/g d'extrait pour *Camellia sinensis*, avoisinant ainsi les 59,41 mg EC/g d'extrait correspondant au taux trouvé par **Hadjimahmood et al., (2008)** et allant de $(25,16 \pm 3,53)$ à $(35,66 \pm 2,17)$ mg EC/g d'extrait pour *Hyoscyamus albus*.

Nous remarquons d'après la figure que l'extrait organique du thé vert a montré une concentration plus élevée que l'extrait aqueux; cela serait dû aux structures polycycliques des tannins qui ont un caractère hydrophobe donc, se solubilisent dans les solvants apolaires.

En revanche, c'est l'extrait aqueux du chloroforme de *Hyoscyamus albus* qui a donné une quantité plus élevée par rapport à l'extrait organique, cela pourrait être dû à la nature biochimique des tanins condensés qui sont des polymères riches en groupements hydroxyles, solubles ainsi dans les solvants polaires (**Gu et al., 2008**).

En outre, l'extrait éthanolique de la jusquiame blanche a montré une concentration légèrement inférieure à celle de l'extrait aqueux, étant donné que le réactif révélateur (la vanilline) réagit uniquement avec la première unité du polymère de pro-anthocyanidines et à cause de l'encombrement stérique engendré et de la possibilité d'interaction des pro-anthocyanidines entre elles.

II-2-3- Les flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes des extraits de *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus*, exprimés en mg équivalent quercétine (EQ) / g d'extrait, est représenté dans la figure suivante :

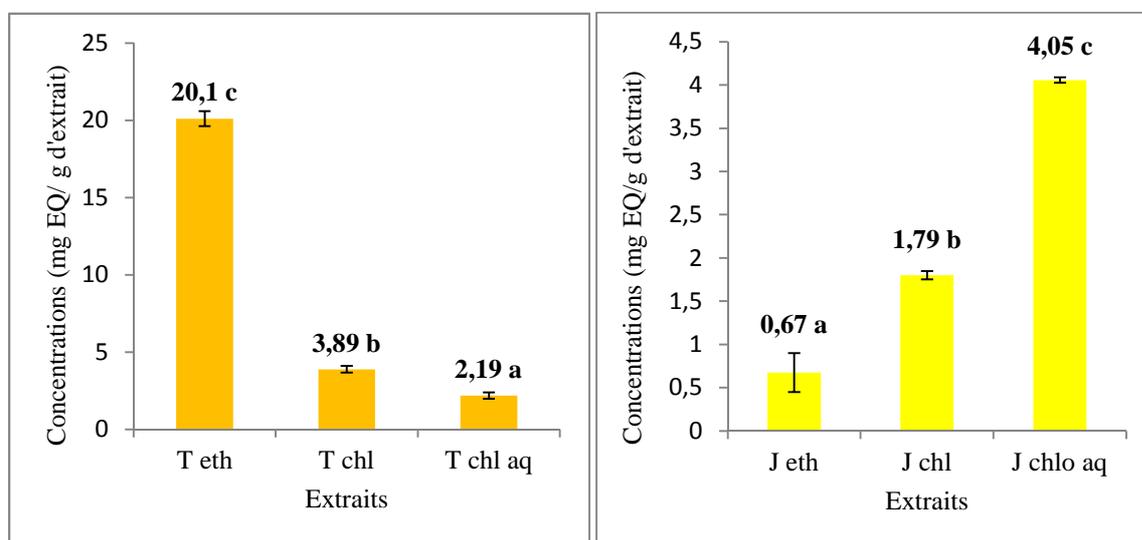


Figure 28: Teneurs en flavonoïdes dans les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* (T) et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* (J).

Une vue d'ensemble de cette représentation graphique nous montre que *Camellia sinensis* présente des teneurs élevées en flavonoïdes.

D'après la figure ci-dessus, on constate que le taux le plus élevé a été obtenu par l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* ($20,1 \pm 0,98$ mg EQ/g d'extrait) étant donné qu'il est le précurseur, donc englobe la totalité des composés phénoliques ; ces résultats sont conformes au résultat obtenu par **Nor Qhairul Izzreen et Mohd Fadzelly, (2013)** qui est de $31,83 \pm 0,80$ mg EQ/g d'extrait.

En outre, l'extrait aqueux du chloroforme a montré une concentration nettement inférieure à celle de l'extrait organique, étant donné que les flavonoïdes peuvent être reliés à des lipides (flavonoïdes apolaires) (**Macheix et al., 2005**).

Quant à *Hyoscyamus albus*, constitue une plante pauvre en flavonoïdes.

En ce qui concerne les extraits de *Hyoscyamus albus*, l'extrait aqueux du chloroforme a donné un résultat de $4,05 \pm 0,03$ mg EQ /g d'extrait aqueux légèrement supérieurs à celui de l'extrait organique du chloroforme ($1,79 \pm 0,044$ mg EQ /g d'extrait), cela serait dû au fait que les flavonoïdes sont de petites molécules très polaires, résultant de leur abondance en groupement hydroxyles, donc insolubles dans le chloroforme (**Papagiannopoulos et Galensa, 2005**).

Il ne faut pas nier une constatation importante, l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* a donné un taux infime ($0,67 \pm 0,22$ mg EQ /g d'extrait) comparé à celui de l'extrait aqueux du chloroforme. On pourrait supposer que cela soit dû au fait que les groupements réagissant avec le $AlCl_3$ ne soient pas disponibles dans l'extrait à cause de l'encombrement stérique engendré par les macromolécules lipidiques (**Azimova et al, 2011**), et au fait qu'il se formerait des interactions intermoléculaires entre eux mettant en œuvre ces groupements révélateurs dans divers types de liaisons physico-chimiques (**Singleton et Rossi, 1965 ; Cicco et al., 2009**).

II-3-L'activité antioxydante

II-3-1-L'activité scavenging du radical DPPH'

L'étude de l'activité scavenging du radical DPPH' selon le protocole de **Hemalatha et al., (2010)**, nous a fourni les résultats exprimés dans la figure suivante :

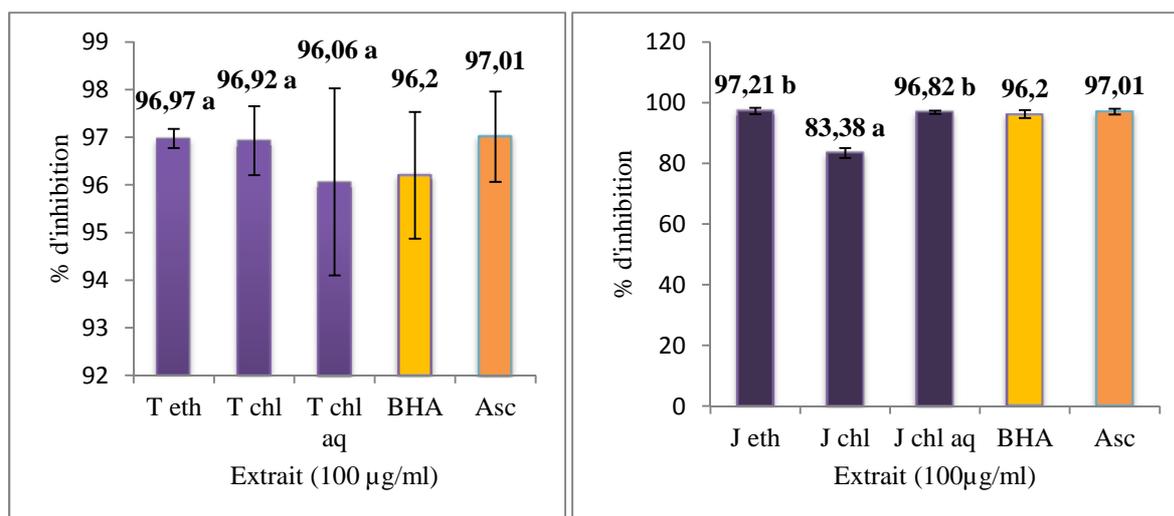


Figure 29: Les pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH[•] des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* et des standards. T eth: Thé éthanol; T chl: Thé chloroforme; T chl aq: Thé aqueux du chloroforme ; J eth: Jusquiame éthanol; J chl: Jusquiame chloroforme; J chl aq: Jusquiame aqueux du chloroforme

A partir de cette figure, nous constatons que tous les extraits de *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus* ont dévoilé une très forte activité scavenging du radical DPPH[•] à 100µg/ml par rapport aux standards utilisés: l'acide ascorbique et la BHA qui ont donné des pourcentages d'inhibition de 97,01% ± 0,95 et de 96,02 ± 1,33, respectivement (à 100 µg/ml).

L'inhibition du radical DPPH[•] par les extraits des deux plantes montre que les extraits éthanoliques ont exhibé les pourcentages d'inhibition les plus importants avec un taux de 96,97 ± 0,20 pour *Camellia sinensis* et de 97,21 ± 1,09 pour l'*Hyoscyamus albus*, étant donné que ce sont les extraits bruts, donc ils contiennent la totalité des composés phénoliques riches en groupement OH donneur d'électrons et d'hydrogènes. Cette activité scavenging élevée du radical DPPH[•] a déjà été rapportée par **Nor Qhairul Izzreen et Mohd Fadzelly, (2013)** avec un taux de 90,8%.

Concernant *Camellia sinensis*, c'est l'extrait organique du chloroforme qui a donné plus que son extrait aqueux proportionnellement à leur teneur en phénols totaux.

En effet, il existe une corrélation positive avec les teneurs en tanins condensés (R=0,96) et en flavonoïdes (R=0,60) (annexe) qui sont des puissants antioxydants, vu leur richesse en groupements OH donneurs d'électrons et d'hydrogènes (**Bruneton, 2009**).

Quant à *Hyoscyamus albus* l'extrait du chloroforme aqueux qui exhibé l'activité la plus importante ($96,82 \pm 0,49$). Ces résultats sont en très bonne corrélation avec ceux du dosage des pro-anthocyanidines ($R= 0,99$) et les polyphénols totaux ($R=0,91$) (annexe).

➤ Détermination des IC_{50}

La IC_{50} est la concentration d'extrait de plante ou de standard pour laquelle 50% des radicaux DPPH[•] sont inhibés.

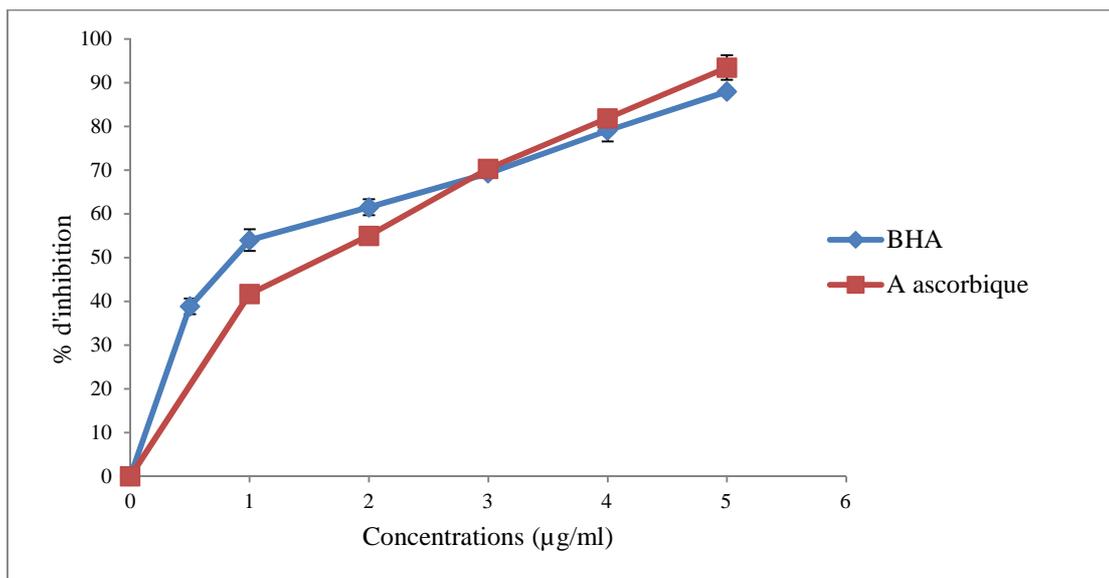


Figure30: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] en fonction de la concentration de la BHA et de l'acide ascorbique

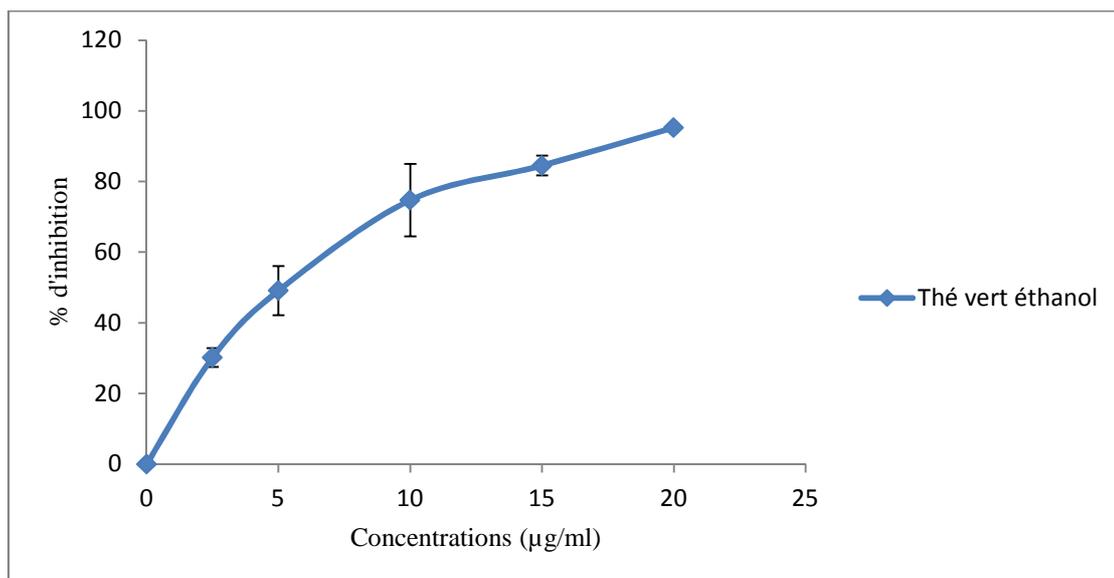


Figure31: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] en fonction de la concentration en extrait éthanolique de *Camellia sinensis*.

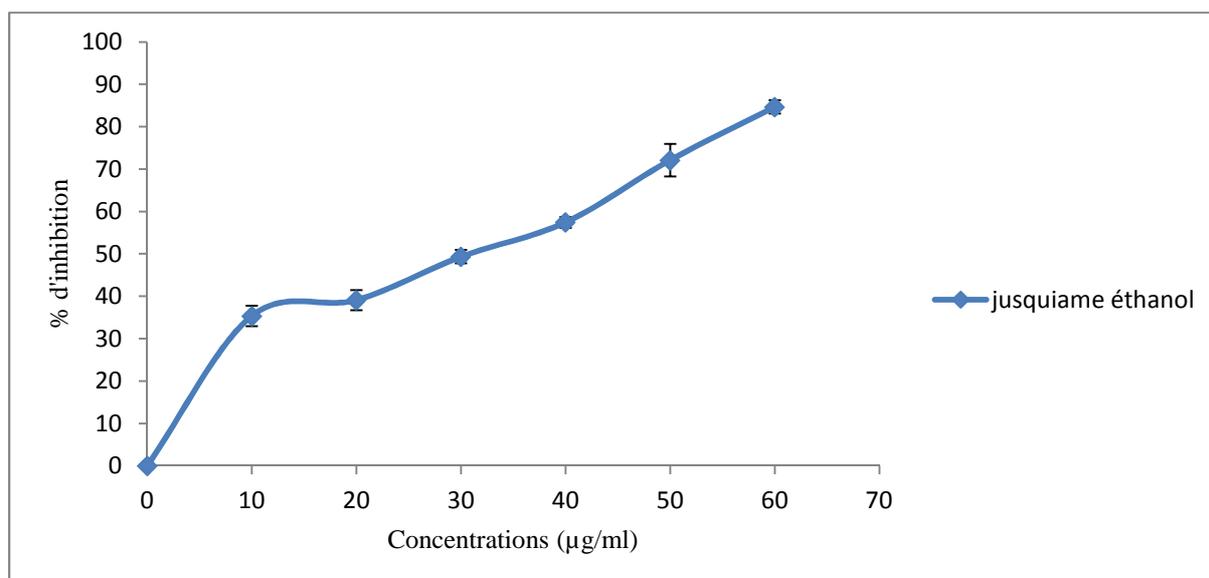


Figure 32: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH* en fonction de la concentration en extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus*.

Les figures ci-dessus montrent que la variation de l'activité scavenging du radical DPPH* des extraits de *Camellia sinensis* et des standards (acide ascorbique et BHA) est dépendante de la concentration, avec l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique de 5,06 µg/ml qui se rapproche de celles des standards utilisés qui sont de 0,98µg/ml et 1,61µg/ml pour la BHA et l'acide ascorbique, respectivement, contrairement à *Hyoscyamus albus* qui possède une IC₅₀ un peu loine de celles des standards qui est de 30,54µg/ml.

Par ailleurs, la valeur de l'IC₅₀ calculée pour l'extrait de *Camellia sinensis* avoisine celle retrouvée par **Khalaf et al., (2008)** qui est de 6,7 µg/ml.

II-3-2-L'activité scavenging du radical ABTS^{•+}

Le radical ABTS^{•+} est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydante des extraits des plantes. L'ABTS^{•+}, en contact avec un donneur d'hydrogène conduit à la forme réduite de l'ABTS et à la décoloration de la solution à 734nm. L'activité scavenging du radical ABTS^{•+} des différents extraits est représentée dans la figure suivante:

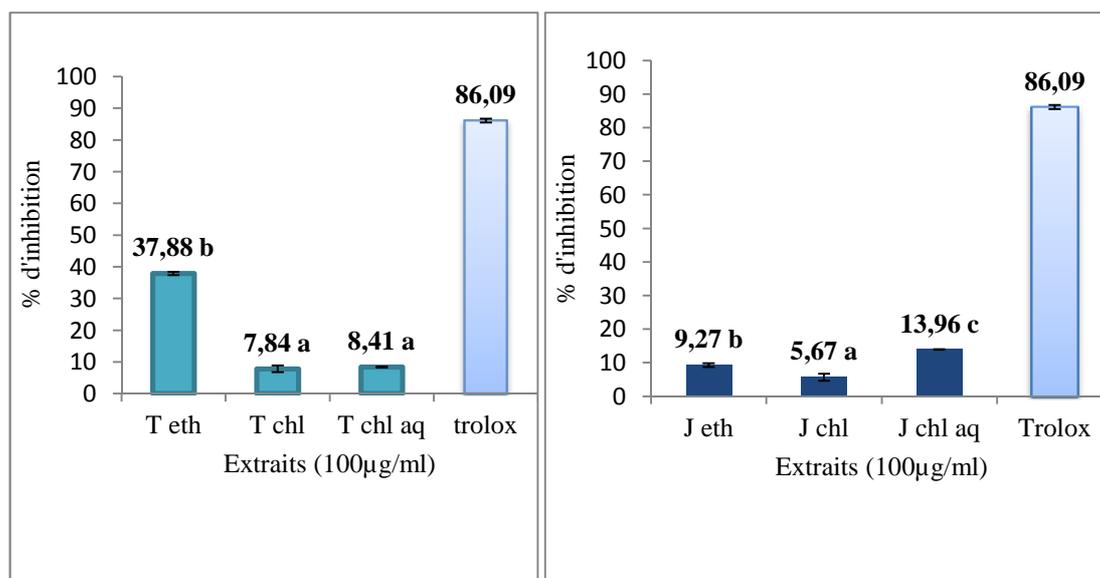


Figure 33: Les pourcentages de l'activité scavenging du radical $ABTS^{*+}$ des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* et le standard.

A partir de cette figure, nous constatons que tous les extraits de *Camellia sinensis* et *Hyoscyamus albus* n'ont pas exhibé une forte activité anti-radicalaire à 100 µg/ml, comparativement à l'activité montrée par le standard utilisé : le Trolox, dont le pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{*+}$ a été de 86,09%.

La figure ci-dessus montre que l'extrait éthanolique du thé vert est plus élevé étant donné que c'est l'extrait brut.

Cependant, l'extrait éthanolique de *Hyoscyamus albus* ($9,27 \pm 0,34\%$) légèrement inférieur à l'extrait aqueux ($13,96 \pm 1,45\%$); cela pourrait bien s'expliquer par un encombrement stérique en empêchant la réduction de l'ABTS par les groupements OH des composés phénoliques.

On constate aussi que c'est l'extrait aqueux de *Camellia sinensis* est légèrement supérieur à l'extrait organique; cela pourrait être expliqué par le fait que l'activité anti-oxydante ne dépend pas que de la quantité des composés phénoliques mais aussi de la qualité de ces derniers.

Néanmoins, il est à noter que l'extrait aqueux du chloroforme de *Hyoscyamus albus* est supérieur à l'extrait organique; ceci est dû à la bonne corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux ($R=0,97$) et les tannins condensés ($R=0,84$) (annexe).

➤ Détermination des IC₅₀

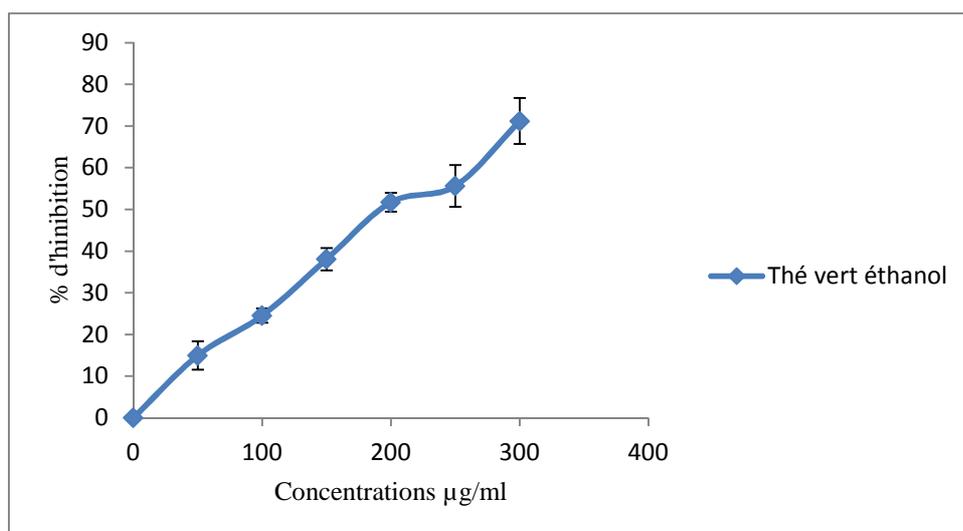


Figure 34 : Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} en fonction de la concentration en extrait éthanolique de *Camellia sinensis*

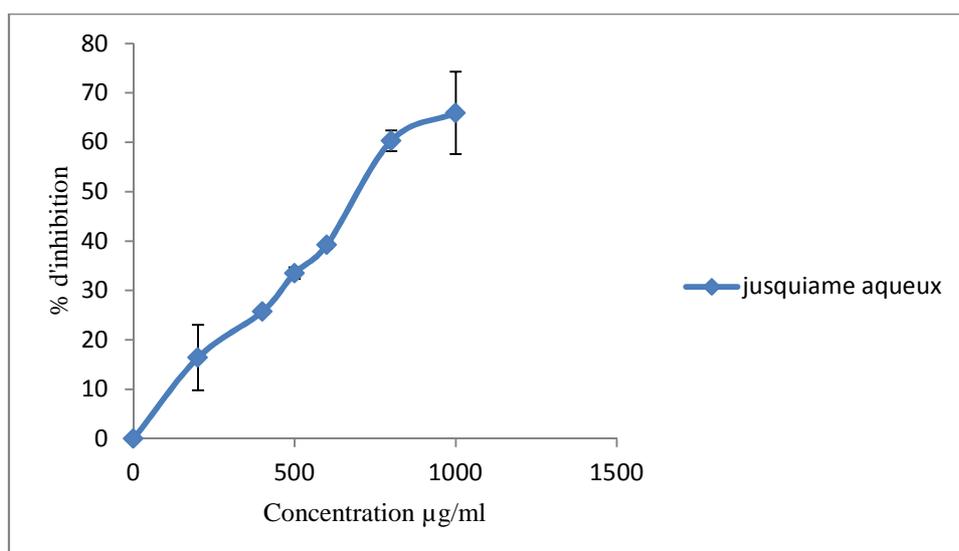


Figure 35: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} en fonction de la concentration en extrait aqueux de *Hyoscyamus albus*.

D'après ces figures, l'activité scavenging du radical ABTS^{•+} est proportionnelle aux concentrations des extraits, avec des IC₅₀ indiquées dans le tableau N° VI, qui sont légèrement supérieures à celle du Trolox qui est de 50,18µg/ml (figure n° 36).

En effet, la valeur de l'IC₅₀ calculée pour l'extrait de *Camellia sinensis* avoisine celle retrouvée par **Nor Qhairul Izzreen et Mohd Fadzelly, (2013)** qui est de 180µg/ml.

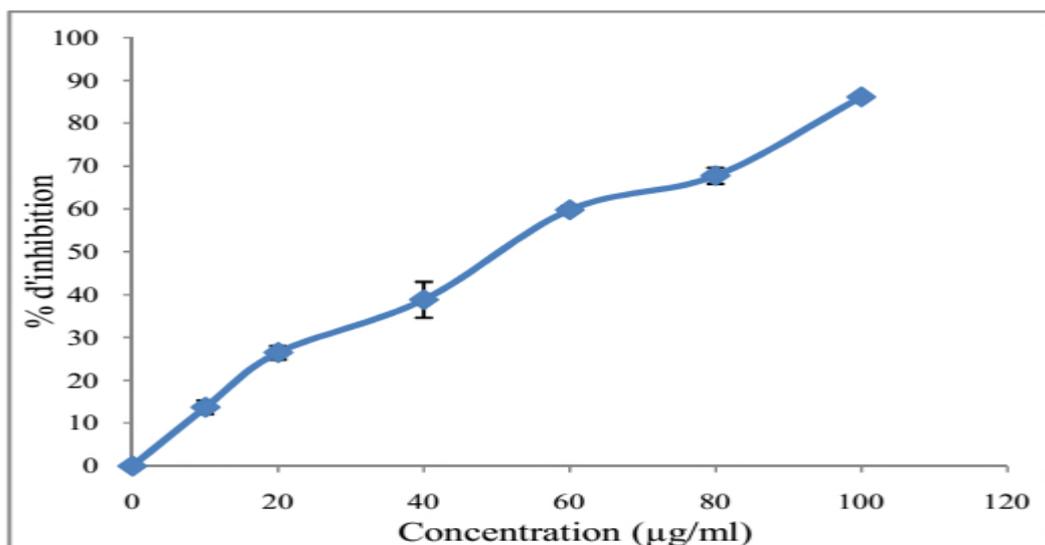


Figure n° 36: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH* en fonction de la concentration en Trolox.

Tableau VI: Les IC₅₀ de l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* et l'extrait aqueux de *Hyoscyamus albus*.

Extraits	IC ₅₀
Extrait éthanolique de <i>C.sinensis</i>	204,71 µg/ml
Extrait aqueux de chloroforme de <i>H.albus</i>	711,68 µg/ml

II-3-3-Le pouvoir réducteur

Le protocole du pouvoir réducteur est un test qui met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi d'apprécier l'activité anti-oxydante de l'extrait testé. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous:

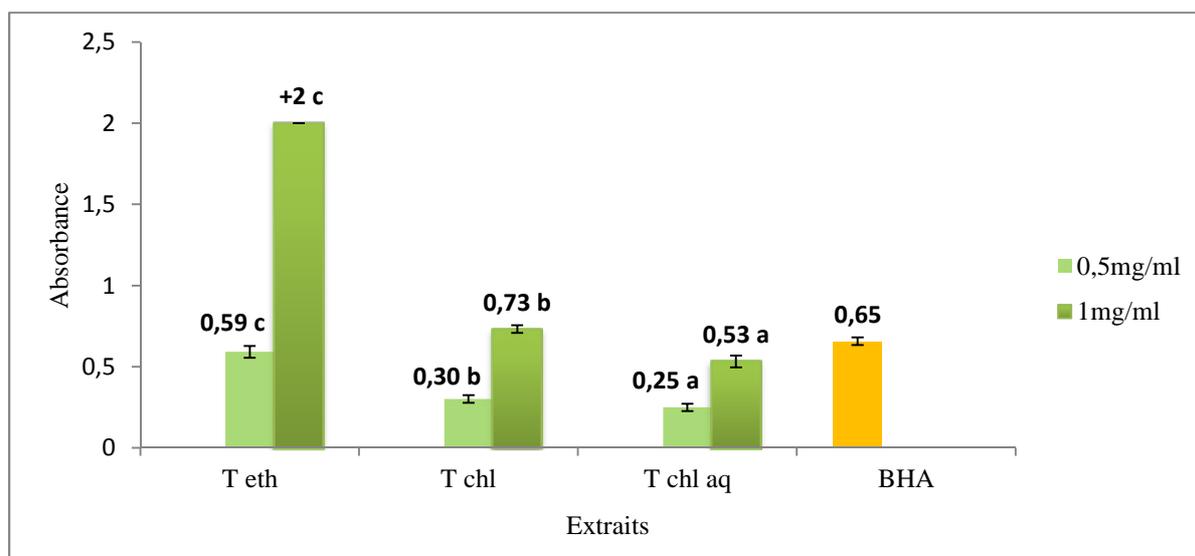


Figure 37: Représentation graphique de l'absorbance de l'ion ferreux (Fe^{+2}) du pouvoir réducteur des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et le standard BHA.

A partir de cette représentation graphique, on remarque en premier lieu que les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* ne possèdent pas un fort pouvoir réducteur à 0,5mg/ml et 1mg/ml; il varie de $0,25 \pm 0,02$ à $0,59 \pm 0,03$ et de $0,53 \pm 0,03$ à +2 respectivement, par rapport à la BHA $0,85 \pm 0,07$.

D'après la figure n° 37, nous faisons également remarquer que la capacité la plus élevée pour *Camellia sinensis* a été obtenue avec l'extrait éthanolique ($0,59 \pm 0,03$ et +2), étant donné que c'est l'extrait brut. En effet, **Kaur et Saraf, (2011)**, ont montré une absorbance de $0,545 \pm 0,00$ pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Camellia sinensis*.

On constate également que le pouvoir réducteur des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* est en parfaite corrélation avec la teneur en flavonoïdes ($R=0,99$), les tanins condensés ($R=0,82$) et les polyphénols totaux ($R=0,66$) (annexe) qui contribuent fortement dans le pouvoir réducteur, vu leur capacité à transférer des électrons.

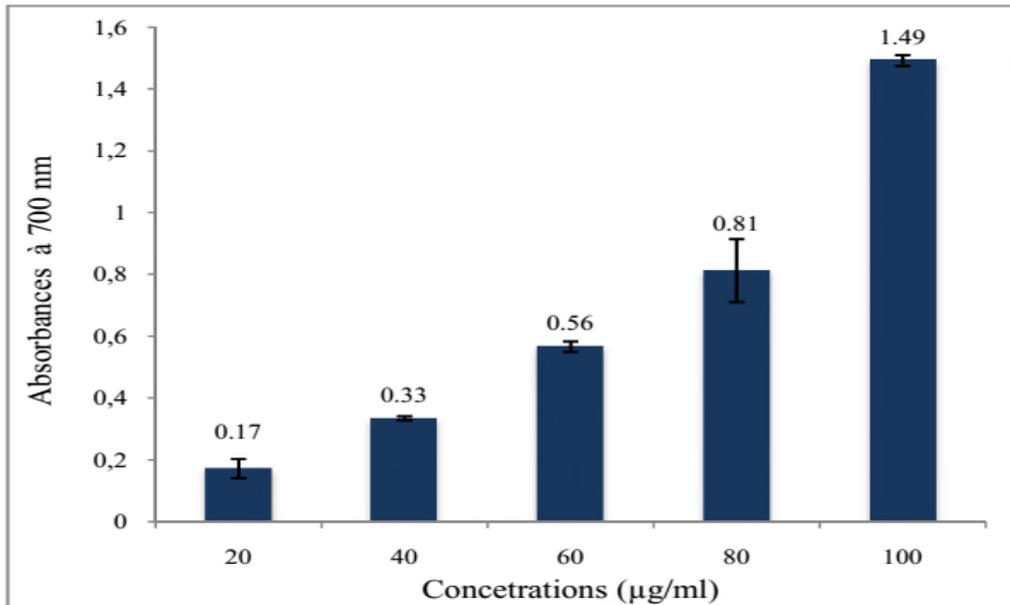


Figure 38 : Pouvoir réducteur de l'antioxydant de synthèse de BHA.

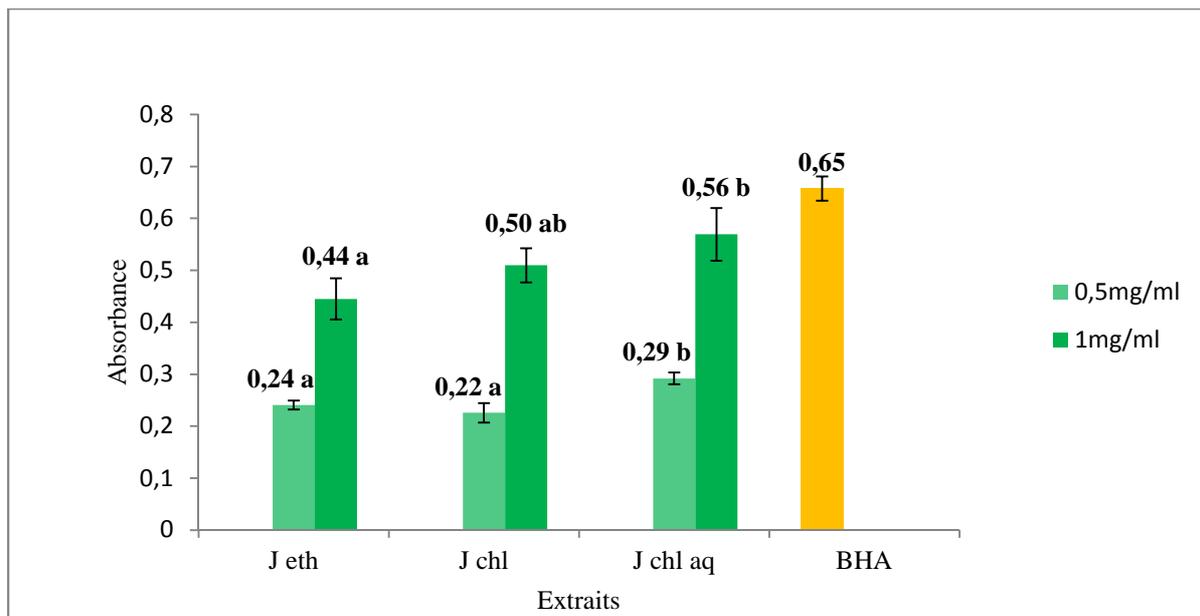


Figure 39 : Représentation graphique de l'absorbance de l'ion ferreux (Fe^{+2}) du pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* et le standard BHA.

A partir de cette figure, on déduit que les extraits de *Hyoscyamus albus* ne possèdent pas un fort pouvoir réducteur à 0,5mg/ml et 1mg/ml; il varie de $0,25 \pm 0,02$ à $0,59 \pm 0,03$ et de $0,22 \pm 0,01$ à $0,29 \pm 0,01$ respectivement, comparativement à la BHA $0,85 \pm 0,07$.

D'après la figure n° 39, nous remarquons que la capacité la plus élevée pour *Hyoscyamus albus* a été obtenue avec l'extrait aqueux du chloroforme ($0,56 \pm 0,05$)

proportionnelle à sa teneur en tannins condensés et flavonoïdes, vu leur richesse en groupements OH donateurs d'électrons et d'hydrogènes.

En effet, le pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne *Hyoscyamus albus* est en parfaite corrélation avec la teneur en polyphénols totaux ($R=0,90$) et tannins condensés ($R=0,70$).

En outre, l'extrait éthanolique de la jusquiame blanche a donné un pouvoir réducteur légèrement inférieur à celui des autres extraits; cela pourrait s'expliquer par un encombrement stérique.

Par ailleurs, la figure n° 38 montre la variation du pouvoir réducteur de la BHA en fonction de la concentration.

Finalement, d'après les résultats obtenus par les trois tests anti-oxydants (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur) nous concluons que *Camellia sinensis* possède une activité anti-oxydante plus élevée que *Hyoscyamus albus*.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Camellia sinensis et *Hyoscyamus albus* sont deux plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies cardiovasculaires, cancéreuses et le vieillissement. Ces plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les composés phénoliques.

Cette étude est basée sur l'extraction et le dosage des composés phénoliques des feuilles de *Camellia sinensis* et de la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* en premier axe. Le second axe porte sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur).

Ainsi, notre travail réalisé sur les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus*, nous a permis d'obtenir les résultats suivants:

- Les rendements d'extraction obtenus montrent que *Camellia sinensis* serait plus riche en composés phytochimiques polaires que apolaires, contrairement à *Hyoscyamus albus* qui serait riche en composés de polarité réduite.
- L'évaluation de la teneur en phénols totaux en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé des concentrations importantes en composés phénoliques pour *Camellia sinensis* supérieures à celles de *Hyoscyamus albus*.
- Les résultats des dosages des composés phénoliques montrent que les phases organiques des extraits des feuilles de *Camellia sinensis* représentent les teneurs les plus élevées en flavonoides et en proanthocyanidines, contrairement à *Hyoscyamus albus*.
- Concernant l'activité anti-oxydante, tous les extraits de *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus* ont dévoilé une très forte activité scavenging du radical DPPH[•] à 100µg/ml par rapport aux standards utilisés. Les IC₅₀ des extraits éthanoliques des deux plantes ont été estimées à 5,06µg/ml et 30,54µg/ml, respectivement.
- Les extraits de *Camellia sinensis* et de *Hyoscyamus albus* n'ont pas exhibé une forte activité scavenging du radical ABTS^{•+} à 100 µg/ml, comparativement à l'activité montrée par le standard utilisé (le Trolox).

- La mesure du pouvoir réducteur a montré que les extraits des feuilles de *Camellia sinensis* et la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* possèdent des capacités réductrices appréciables à 100 µg/ml.
- En fin, l'activité anti-oxydante peut être attribuée à la présence des polyphénols dans les extraits, les résultats indiquent une bonne corrélation entre les activités anti-oxydantes testées et les composés phénoliques, suggérant que les composés phénoliques sont probablement responsables de cette activité.

La présente étude nous permet de conclure que les extraits de *Camellia sinensis* constituent une importante source en composés phénoliques doués d'une grande activité anti-oxydante, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle par rapport à *Hyoscyamus albus*, qui est une plante pauvre en composés phénoliques. De ce fait, les résultats de notre travail méritent d'être affinés et pour cela il serait intéressant de:

- Purifier et d'identifier les principes actifs responsables des ces activités par des techniques plus performantes telles que HPLC, GC-MS et RMN. Aussi, il serait important de suivre cette étude par des applications *in vivo* en étudiant la toxicité de ces composés, leur activité antimicrobienne et anticancéreuse.

*Références
bibliographiques*

References bibliographiques

- ❖ Abdou Bouba, A., Njintang, Y.N., Sher, J., and Mbofung, C.M. (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America*, **1**(3): 213-224.
- ❖ Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., et Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, **74**: 636-643.
- ❖ Alkurd, A.R., Takruri, R.H and Al-Sayyed, H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, **4**(3): 265-274.
- ❖ Andersen, H.R., Nielsen, J.B., Nielsen, F., and Grandjean, P. (1997). Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, **43**(4): 562-568.
- ❖ Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., et Khebri, S. (2010). Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum Cyminum L.* *Lebanese Science Journal*, **11**(1): 69-81.
- ❖ Avissar, N., Whitin, J.C., Allen, P.Z., Wagner, D.D., Liegey, P., and Cohen, H.J. (1989). Plasma Selenium-dependent Glutathione Peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, **264**(27): 15850-15855.
- ❖ Azimova, S.S., Glushenkova, A.I., and Vinogradova, V.I. (2011). Lipids, lipophilic components and essential oils from plants sources. Springer. 992p.
- ❖ Ba, K., Tine, E., Destin, J., cissé, N., et Thonart, P. (2010). Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **14**(1): 131-139.
- ❖ Bajaj, Y. P. S., Nagata, T., and Ebizuka, Y. (2002). Medicinal and aromatic plants XII. Springer. 348p.
- ❖ Bansal, S., Choudhary, S., Sharma, M., Kumar, S.S., Lohan, S., Bhardwaj, V., Syan, N., and Jyoti, S. (2013). Tea: A native source of antimicrobial agents. *Food Research International*, **53**: 568-584.
- ❖ Barouki, B. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine sciences*, **22**: 266-272.
- ❖ Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio*, **2**(1): 43-52.

- ❖ Bartram, T. (2013). Bartram's encyclopedia of herbal medicine. Constable & Robinson.490p.
- ❖ Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt Cardio*, **2**(1): 43-52.
- ❖ Beaudoux, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., et Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, **21**: 144–150.
- ❖ Benzie, I.F.F., Szeto, T., Strain, J.J., and Tominson. (1999). Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans. *Nutrition and Cancer*, **34**(1): 83-87.
- ❖ Berger, M.M., et Chioloro, R.L. (2001). Apport d'antioxydants en réanimation : pourquoi, lesquels, avec quels objectifs ? *Réanimation*, **10**: 527-534.
- ❖ Boizot, N., et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech.INRA. N°. special. P: 79-82.
- ❖ Bolling, B.W., Chen, C.Y., and Blumberg, J.B. (2009). Tea and health : Preventive and therapeutic usefulness in the elderly? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **12**(1) :42-48.
- ❖ Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudoux, J.L., Théron, P., Legrand, A., et Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, **16**: 260-267.
- ❖ Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition Lavoisier. Paris. 1268p.
- ❖ Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition Lavoisier. Paris. 1120p.
- ❖ Bruneton, J. (1993). Composés phénoliques: pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Edition Lavoisier. Chap.3. Paris. pp: 199-383.
- ❖ Cadenas, E., and Davies, K.J.A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology & Medicine*, **29**: 222-230.
- ❖ Césarini, J.P. (2004). Le selenium: actualités. john libbey Eurotex. 145p.
- ❖ Charles, M., et Benbrook, P-D. (2005). Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center*: **10**.
- ❖ Chauhan, N.S. (1999). Medicinal and Aromatic Plants of Himachal Pradesh

Indus Publishing. 632p.

- ❖ Chavan, U.D; Shahidi, F. and Naczki, M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Larthyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, **75**: 509-512.
- ❖ Cicco, N., Lanorte, M.T., Paraggio, M., Viggiano, M., and Lattanzio, V. (2009). A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal*, **91**: 107-110.
- ❖ Couplan, F. (2012). Les plantes et leurs noms: histoire insolites. Editions quae. 223p.
- ❖ Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for Microbiology*, **12**(4): 564-582.
- ❖ D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., and Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*, **43**(4): 348-361.
- ❖ Da Silva Pinto, M. (2013). Tea: A new perspective on health benefits. *Food Research International*, **53**: 558-567.
- ❖ Davies, J.M., Fu, S., Wang, H., and Dean, R. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**(11/12): 1151-1163.
- ❖ Defraigne, J.O et Pincemail, J. (2007). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liege*, **62**(4):1-10.
- ❖ Dembele, M.L. (2008). Contrôle de la qualité physicochimique et bactériologique des Thés verts consommés au Mali. Thèse de Docteur en pharmacie. Université de Bamako. 122p.
- ❖ Denisov, E.T., and Afanas'ev, B.I. (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. Taylor & Francis. 992p.
- ❖ Doerk-Schmitz, K., witte, L., and Alfermann, A.W. (1994). Tropane alkaloid patterns in plants and hairy roots of *hyoscyamus albus*. *Phytochemistry*, **35**(1): 107-110.
- ❖ Durand, G., et Beaudeau, J.L. (2011). Biochimie médicale : marqueurs actuels et perspectives. Edition Lavoisier. 607p.
- ❖ Edeas, M. (2005). Les secrets de santé du thé. Alpen editions S.A. 95p.
- ❖ Edenharder, R., and Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research*, **540**: 1-18.

- ❖ Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A., and Grodsky, J.M. (2002). Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews*, **23**(5): 599-622.
- ❖ Farhoosh, R., Golmovahhed, G.A., and Khodaparast, M.H.H. (2007). Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chemistry*, **100**: 231-236.
- ❖ Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, **11**: 108-115.
- ❖ Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., et Lerverve, x. (2002). Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*, **11**: 411-420.
- ❖ Fuinel, G. (2002). Arbres et plantes médicinales du jardin. Amazon France. Editions Fernand Lanore. 162p.
- ❖ Gaillard, Y., Cheze, M., et Pépin, G. (2001). Intoxications humaines par les végétaux supérieurs: Revue de la littérature. *Annales de Biologie Clinique*, **59**(6): 764-765.
- ❖ Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *L'actualité Chimique*, 91-96.
- ❖ Ghisolfi-Marque, A., Boyer, M.J., Vellas, B., Thouvenot, J.P., Albarède, J.L., et Ghisolfi, J. (1996). Activité anti-oxydante, lipoperoxydation et vieillissement chez l'homme. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **10**: 151-160.
- ❖ Gilbert, T., Drai, J., et Bonnefoy. M. (2013). Stress oxydant et maladie d'Alzheimer. Springer-Verlag, **10**: 75-194.
- ❖ Goli, A.H; Barzegar, M and Sahari, M.A. (2004). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, **92**: 521-525.
- ❖ Goudable, J., et Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **11**: 115-120.
- ❖ Goullé, J-P., Pépin, G., Dumestre-Toulet, V., and Lacroix, C. (2004). Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de Toxicologie Analytique*, **16** (1) : 22-35.
- ❖ Gu, H.F., Li, C.M., Xu, Y.J., Hu, W.F., Chen, M.H., and Wan, Q.H. (2008). Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. *Food Research International*, **41**: 208-217.
- ❖ Gutteridge, J.M.C. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, **91**: 133-140.

- ❖ Hajimahmoodi, M., Hanifeh, M., Oveisi, M.R., Sadeghi, N., and Jannat, B. (2008). Determination of total antioxidant capacity of green teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng*, **5**(3): 167-172.
- ❖ Hamilton-Miller, J. M. T. (1995). Antimicrobial Properties of Tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **39**(11): 2375-2377.
- ❖ Hammiche, V., Merad, R and Azzouz, M. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Paris. 452p.
- ❖ Han, M.K. (2003). Epigallocatechin gallate, a constituent of green Tea, suppresses cytokine-induced pancreatic beta cell damage. *Exp. Mol. Med*, **35**(2): 136-139.
- ❖ Haslam, E. (2007). Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, **68**: 2713-2721.
- ❖ Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, **96**: 67-202.
- ❖ Hemalatha, S., Lalitha, P., and Arulpriya, P. (2010). Antioxidant activities of the extracts of the aerial roots of *pothos aurea* (Linden ex Andre). *Der Pharma Chemica*, **2**(6): 84-89.
- ❖ Hong, H.J., Kim, M.J., Park, M.R., Kwag, O.G., Lee, I.S., Byun, B.H., Lee, S.C., Lee, K.B., and Rhee, H.J. (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinica Chimica Acta*, **340**: 107-115.
- ❖ Huet, O., et Duranteau, J. (2008). Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation*, **17**: 387-392.
- ❖ Jayanthi, P and Lalitha, P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia Crassipipes* (Mart.) solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**(3): 126-128.
- ❖ Jhansee, M., Alok, K.D., and Deepak, K.D. (2013). Medicinal and therapeutic potentialities of Green Tea (*camellia sinensis*) -a review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **2**(6): 4745-4763.
- ❖ Joachim, J., Abdelbary, G., Prinderre, P., Reynier, J.P., Kister, J., and Piccerelle, P. (2004). Anti-free radicals: source, role and application in dermo-cosmetology. *Bull. Pharm. Sci., Assiut University*, **27**(1): 63-68.
- ❖ Jovanovic, V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., and Simic, M.G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc*, **116** : 4846-4851

- ❖ Jouzier, E. (2005). Solanacées médicinales et philatélie. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **144**: 311-332.
- ❖ Kadi, K., and Yahia, A. (2007). Effect of phyto-hormones 2,4-d and kinitin, applications on alkaloids accumulation in *hyoscyamus albus L.* *Sciences & Technologie*, **25**: 13-17.
- ❖ Kadi, K. (2010). Contribution à l'étude de l'effet promoteur des phytohormones sur l'accumulation des composés actifs de la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus*). Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine. 124p.
- ❖ Kahkonen, M.P., Hopta, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**(10): 3954-3962.
- ❖ Kaloustian, J., et Hadji-Minaglou, F. (2013). La connaissance des huiles essentielles qualilogie et aromathérapie : entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. 226p.
- ❖ Kao, X.H., Chang, H.H., Lee, M.J., and Chen, C.L. (2006). Tea, Obesity, and diabetes. *Mol. Nutr. Food Res*, **50**(2): 188-210.
- ❖ Kaur, C.D., and Saraf, S. (2011). Photochemoprotective activity of alcoholic extract of *Camellia sinensis*. *International Journal of Pharmacology*, **7**(3): 400-404.
- ❖ Khalaf, A.N., Shakya, K.A., Al-othman, A., El-agbar, Z., and Farah, H. (2008). Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk J Biol*, **32**: 51-55.
- ❖ 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**: 165-177.
- ❖ Krieps, M. (2009). Le Thé : origine, actualité et potentialités. Docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1. 215p.
- ❖ Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., and Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biologies*, **331**: 865-873.
- ❖ Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., et Samuel, J. (2007). Biologie et pathologie du Cœur et des vaisseaux. John Libbey Eurotext. p677.
- ❖ Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., et Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *OCL VOL*, **14**(5): 278-292.

- ❖ Le, K., Chiu, F., and Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, **105**: 353-363.
- ❖ Lee, Y.J., Choi, D.Y, Yun, Y.P, Han, S.B, Oh, K.W, and Hong, J.T. (2013). Epigallocatechin-3-gallate prevents systemic inflammation-induced memory deficiency and amyloidogenesis via its anti-neuroinflammatory properties. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **24**: 298-310.
- ❖ Lee, J., Koo, N., and Min, B.D. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **3**: 21-33.
- ❖ Luo, K.W., Ko, C.H., Yue, G.G.L., Lee, J.K.M., Li, K.K., Lee, M., Li, G., Fung, K.P., Leung, P.C., and Lau, C.B.S. (2013). Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits both the metastasis and osteolytic components of mammary cancer 4T1 lesions in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 1-34.
- ❖ Macheix, J.J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives a la fin du XXème siècle ? *Acta Botanica Gallica*, **143**(6): 473-479.
- ❖ Madamanchi, N.R., Vendrov, A., and Runge, M.S. (2005). Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **25**: 29-38.
- ❖ Maillet, F. (2003). Les vertus médicinales du thé (*Camellia sinensis, ternstroemiaceae*) : Du mythe à la réalité. Docteur en pharmacie. Université de Nantes. 168p.
- ❖ Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., et Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Sciences*, **20**(4): 458-463.
- ❖ Margaret F. R., and Wink, M. (1998). Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. 486p.
- ❖ Margaille, I., Plotkine, M., Lerouet, D. (2005). Antioxidant strategies in the treatment of stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, **39**: 429-443.
- ❖ Marhamatizadeh, M.H., Ehsandoost, E., and Gholami, P. (2013). The influence of Green Tea (*Camellia sinensis L.*) extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, **2**(17): 599-606.
- ❖ Martin, S., et Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**: 304-315.

- ❖ Martínez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, **77**: 147-161.
- ❖ Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., and Nùñez De Castro, I. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, **32**(8): 595-603.
- ❖ Matés, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **153**: 83-104.
- ❖ Mehinagic, E., Bourles, E., et Jourjon, F. (2011). Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **43**(6): 364-368.
- ❖ Middleton, JR.E., Kandaswami, C., and Theoharides, C.T. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **52**(4): 673-751.
- ❖ Miller, N.J., and Rice-Evans, C. (1997). Factor influencing the antioxidant activity determined by the ABTS^{•+} radical cation assay. *Free Radical Biol. Med*, **26**: 195-199.
- ❖ Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, **26**(2): 212-219.
- ❖ Mukhopadhyay, S; Luthria, D.L. and Robbins, R. (2005). Optimisation of extraction process for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**(1): 156-162.
- ❖ Namita, P., Mukesh, R., and Vijay, J.k. (2012). *Camellia Sinensis* (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology*, **6** (2): 52-59.
- ❖ Narotzki, B., Reznick, Z.A., Aizenbud, D., and Levy, Y. (2012). Green Tea: A promising natural product in oral health. *Archives of oral biology*, **57**: 429-435.
- ❖ Nejadhabibvash, F., Rahmani, F., Heidari, R., and Jamei, R. (2012). Assessment of genetic diversity among *Hyoscyamus* genotypes based on ISSR markers. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, **4** (17): 1300-1306.
- ❖ Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D.E.V., Boelens, P.G., Norren, K.V and Leeuwen, P.A.V. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications¹⁻³. *American Society for Clinical Nutrition*, **74**: 418-425.

- ❖ Nishant, R., Jigisha, A., Navin, K., and Pankaj, G. (2012). Green Tea: A magical herb with miraculous outcomes. *International Research Journal of Pharmacy*, **3**(5): 139-148.
- ❖ Nor Qhairul Izzreen, M. N. and Mohd Fadzelly, A. B. (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia. *International Food Research Journal*, **20**(1): 307-312.
- ❖ Nouette-Gaulain, K., Quinart, A., Letellier, T., et Sztark, F. (2007). La mitochondrie : rôles et implications en anesthésie-réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, **26**: 319-333.
- ❖ Ogle, N. (2004). Green tea *Camellia Sinensis*. *Australian Journal of Medical Herbalism*, **21**(2): 44-48.
- ❖ Ogunlana, O.E., and Ogunlana, O.O. (2008). In vitro assessment of antioxidant activity of *Newbouldia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **2**(8): 176-179.
- ❖ Okamura, K., Takanashi, A., Yamada, T., and Hiraishi, A. (2012). Ammonia-oxidizing activity and microbial community structure in acid tea (*Camellia sinensis*) orchard soil. *Journal of Physics*, **352**: 1-5.
- ❖ Opara, E.C. (2002). Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, **122**(1): 28-34.
- ❖ Oyedemi, S.O., and Afolayan, A.J. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous leaves extract of *Leonotis* (L.) R.Br. *International of Pharmacology*, **7**(2): 248-256.
- ❖ Ozhogina, O.A., and Kasalkina, O.T. (1995). B-Carotène as an interceptor of free radicals. *Free Radical Biology & Medicine*, **19**(5): 575-581.
- ❖ Pamplona, R., Portero-Otin, M., Ruiz, C., Gredilla, R., Herrero, A., and Barja, G. (1999). Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mechanisms of Ageing and Development*, **112**: 169-183.
- ❖ Papagiannopoulos, M and Galensa, R. (2005). Increased retention of polar flavonoids RP-HPLC on a polaris amide C18 column. *Application Food*: 12-13.
- ❖ Papazian, L., et Roch, A. (2008). Le syndrome de détresse respiratoire aigue. 262p.
- ❖ Pasteur, L. (2013). la maladie d'alzheimer: interet des molecules d'origine naturelle. Docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier. 113p.

- ❖ Perry, J.J.P., Shin, D.S., Getzoff, E.D., and Tainer, J.A. (2010). The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1804**: 245-262.
- ❖ Piquet, M.A., et Hébuterne, X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Wolters Kluwer. France. 253 p.
- ❖ Pham-Huy, L.A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International journal of Biomedical Science*, **4**(2): 89-96.
- ❖ Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**(7): 1035-1042.
- ❖ Rao P, S., Kalva, S., Yerramilli, A., and Mamidi, S. (2011). Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, **1**: 2-7.
- ❖ Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, **26**(9/10): 1231-1237.
- ❖ Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian Le Goff, L., et Had-Aissouni, L. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, **24**: 502-509.
- ❖ Ribéreau-gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Paris : Dunod. pp : 91-107.
- ❖ Riché, D. (2006). Le sport constitue-t-il un stress oxydant? *NAFAS*, **4**(1): 11-20.
- ❖ Ross, A. (2005). *Camellia Sinensis* L. *Medicinal plants of the world*, **3**: 1-27.
- ❖ Russo-Marie, F., Peltier, A., et Polla, S.B. (1998). L'inflammation. John Libbey Eurotext. 565p.
- ❖ Sánchez, E.P., Ribero Vargas, M.E., and Restrepo Gutiérrez, J.C. (2013). Hepatotoxicity due to green tea consumption (*Camellia Sinensis*): A review. *Rev Col Gastroenterol*, **28**(1): 43-49.
- ❖ Shah, S., Borah, D., and Yadav, R. N. S. (2013). Extraction and characterization of peroxidase from *Camellia sinensis*. *The National Academy of Sciences*.
- ❖ Sharangi, A.B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) - A review. *Food Research International*, **42**: 529-535.
- ❖ Schofield, P., Mbugua, D.M., and Pell, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, **91**: 21-40.

- ❖ Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**: 144-158.
- ❖ Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus Biologies*, **327**: 649-662.
- ❖ Strauss, A. (1989). Medicinal and Aromatic Plants II. Biotechnologie in Agriculture and Forestry, **7**.
- ❖ Symon, D.E. (1981). The solanaceous genera, brow alma, capsicum, cestrum, cyphomandra , hyoscyamus, lycopersicon, nierembergia , physalis , petunia, salpichroa and withania, naturalised in australia. *J. Adelaide Bot. Gard.* **3**(2): 133-166.
- ❖ Tang, S.Y., and Halliwell, B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and Caenorhabditis elegans studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **394**: 1–5.
- ❖ Tessier, F., et Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, **10**: 1-13.
- ❖ Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, **2**: 1231-1246.
- ❖ Valdivia, A., Pérez-Álvarez, S., Aroca-Aguilar, J.D., Ikuta, I., and Jordán, J. (2009). Superoxide dismutases: a physiopharmacological update. *J Physiol Biochem*, **65**(2): 195-208.
- ❖ Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**: 1-40.
- ❖ Van Acker, S.A.B.E., Van Den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, H.D., Van Bennkom,w.P., Van Der Vijgh, W.J.F., and Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**(3): 331-342.
- ❖ Vergely, C., et Rochette, L. (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie*, **1**(3): 131-139.
- ❖ Vertuani, S., Angusti, A., and Manfredini, S. (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, **10**: 1677-1694.

- ❖ Vézina, A. (2012). Impact du statut de différenciation des cellules promyélocyaires HL-60 sur l'efficacité anticancéreuse et antiinflammatoire de l'EGCG. Thèse Maîtrise des sciences en Physiologie. Université de Montréal. 96p.
- ❖ Vierling, E. (2008). Aliments et boissons: filières et produits. Wolters Kluwer. France. 277p.
- ❖ Vuorela, S. (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapessed phenolics (dissertation). EKT series 1343. University of Helsinki. Departement of Applied Chemistry and Microbiology.
- ❖ Waltner-Law, M.E., Wang, X.L., Law, B.K., Hall, R.K., Nawano, M., and Granner, D.K. (2002). Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J. Bio. Chem*, **277**(38): 34933-34940.
- ❖ Wassmann, S., Wassmann, K., and Nickenig, G. (2004). Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. *Journal of the American Heart Association*, **44**: 381-386.
- ❖ Wolfram, S., Wang, Y., and Thielecke, F. (2006). Anti-obesity effects of green tea: from bedside. *Mol. Nutr. Food Res*, **50**(2): 176-187.
- ❖ Yashin, A., Yashin, Y., and Nemzer, B. (2011). Determination of Antioxidant Activity in Tea Extracts, and Their Total Antioxidant Content. *Am. J. Biomed. Sci*, **3**(4): 322-335.
- ❖ Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., and Chen, S.S. (2004). Flavonoids in foods and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, **59**: 113-122.
- ❖ Yap, C.F., Ho, C.W, Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y., and Leong, Y.S. (2009). Optimization of extraction condition of total phenolic compounds from star fruit (*Averrhoacarambola L.*) residues. *Sains Malaysiana*, **38**(4): 511-520.
- ❖ Zehra, M., Banerjee, S., Naqvi, A.A., and Kumar, S. (1998). Variation in the growth and alkaloid production capability of the hairy roots of *Hyoscyamus albus*, *H. muticus* and their somatic hybrid. *Plant Science*, **136**: 93-99.

Annexes

Annexes

Annexe N° 01 : Courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en pro-anthocyanidines.

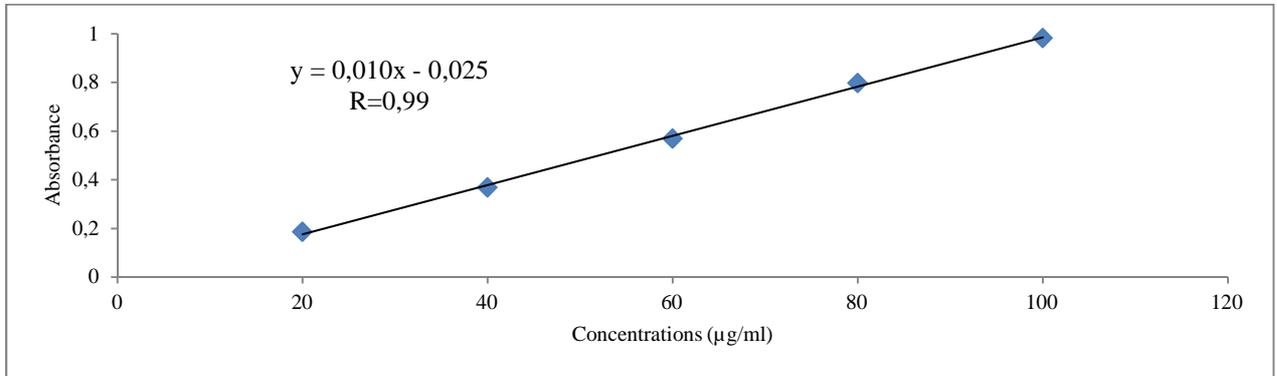


Figure 01: Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux ($\lambda = 765$ nm).

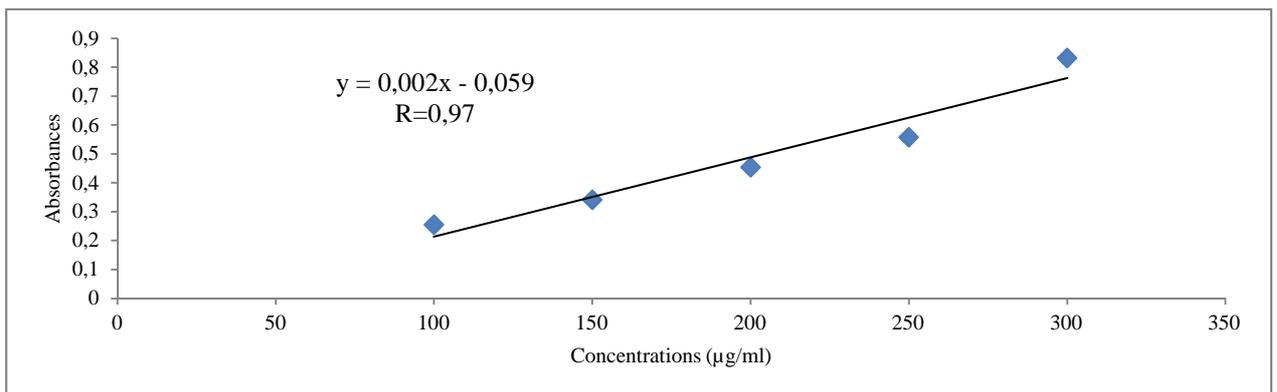


Figure 02: Courbe d'étalonnage avec la catéchine pour le dosage des tanins ($\lambda = 500$ nm).

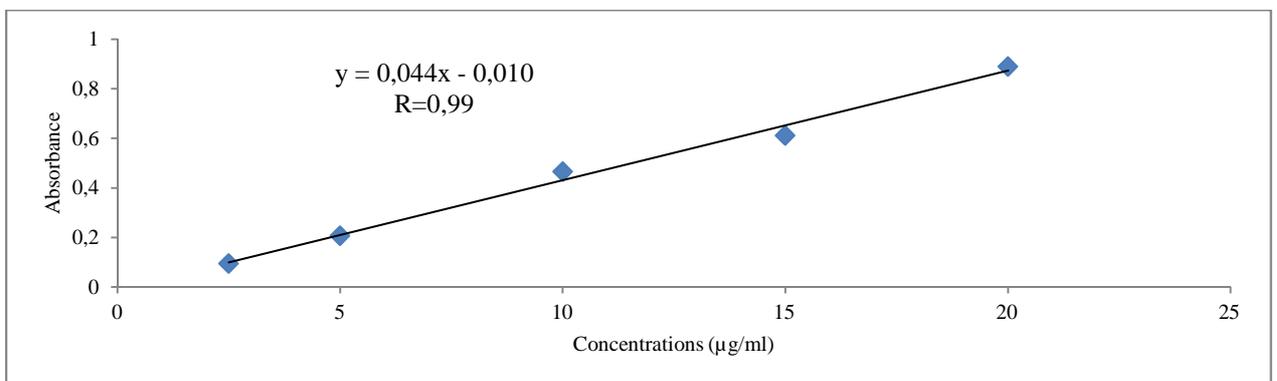


Figure 03: Courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes ($\lambda = 430$ nm).

Annexe N° 02: Courbes obtenues par origine 8 utilisées pour le calcul des IC₅₀

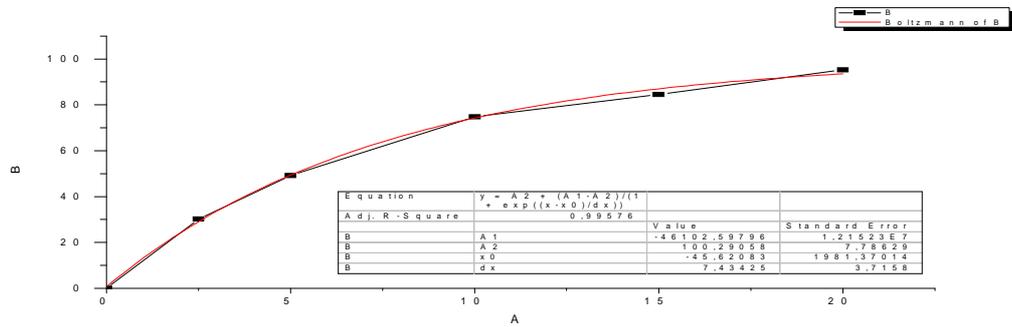


Figure 4: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique dans des feuilles de *Camellia sinensis* dans l'activité scavenging du DPPH.

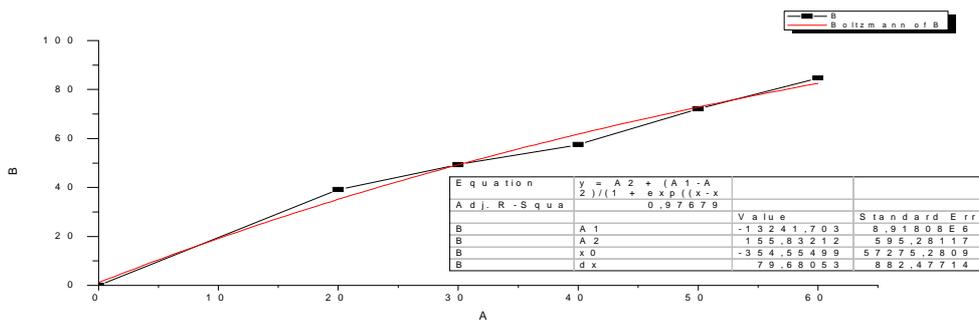


Figure 5: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique dans la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* dans l'activité scavenging du DPPH.

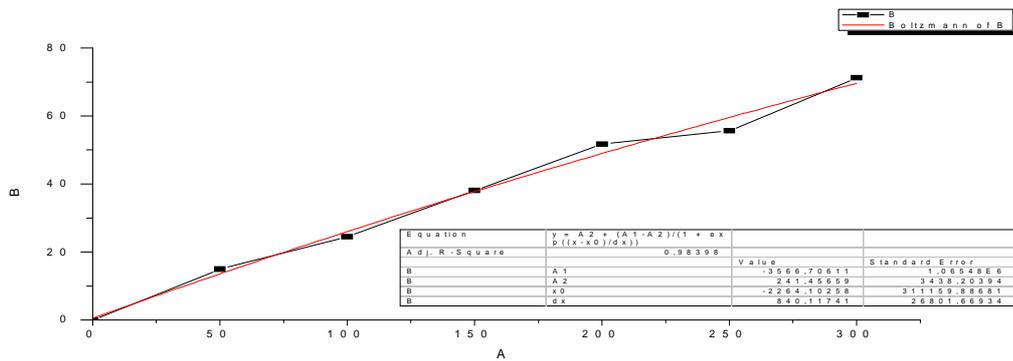


Figure 6: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique dans des feuilles de *Camellia sinensis* dans l'activité scavenging de l'ABTS.

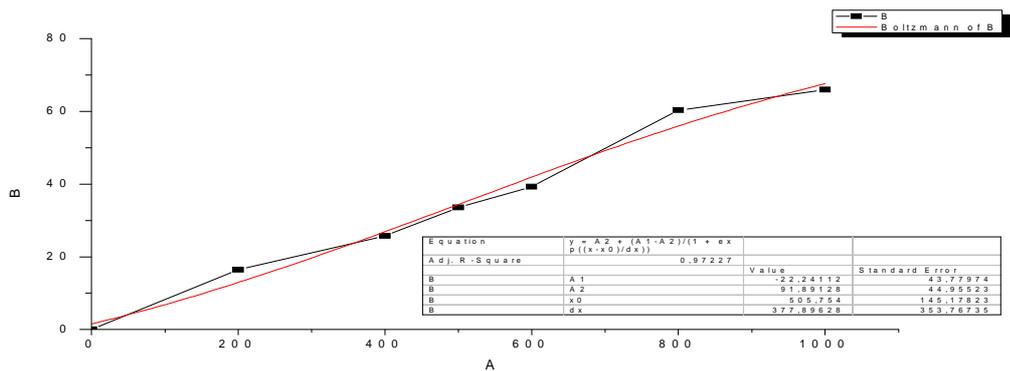


Figure 7: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait aqueux dans la partie aérienne de *Hyoscyamus albus* dans l'activité scavenging de l'ABTS.

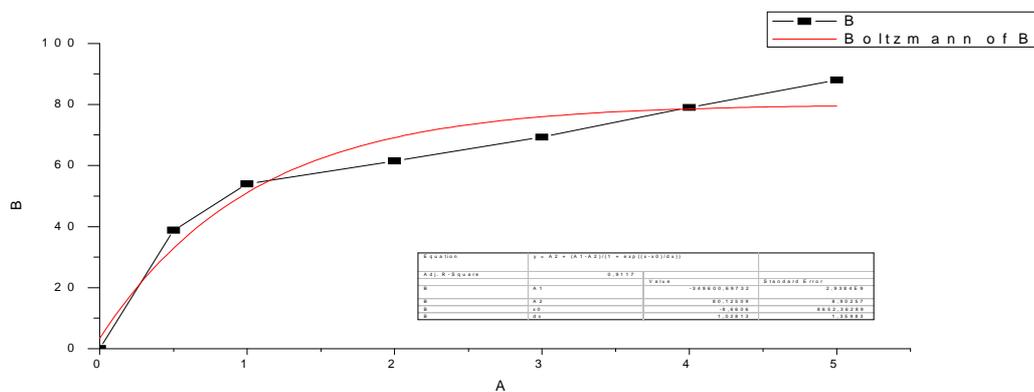


Figure 8: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de la BHA dans l'activité scavenging du DPPH.

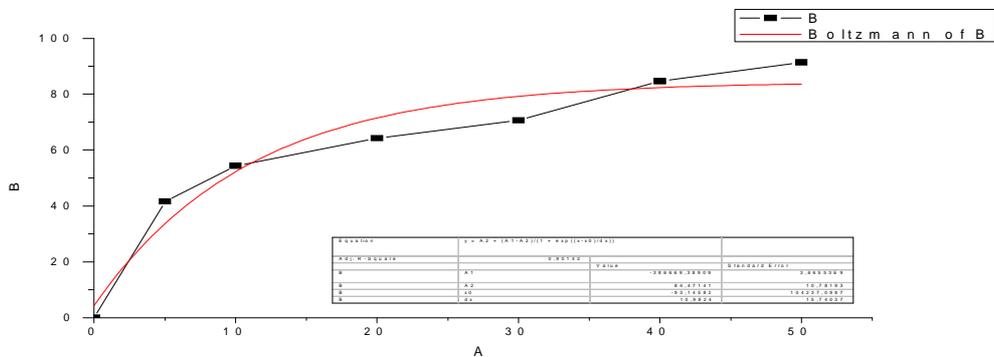


Figure 9: Courbe pour le calcul de l'IC₅₀ de l'acide ascorbique dans l'activité scavenging du DPPH.

Annexe N° 03 : Courbes de corrélation des différentes activités avec les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et en tannins.

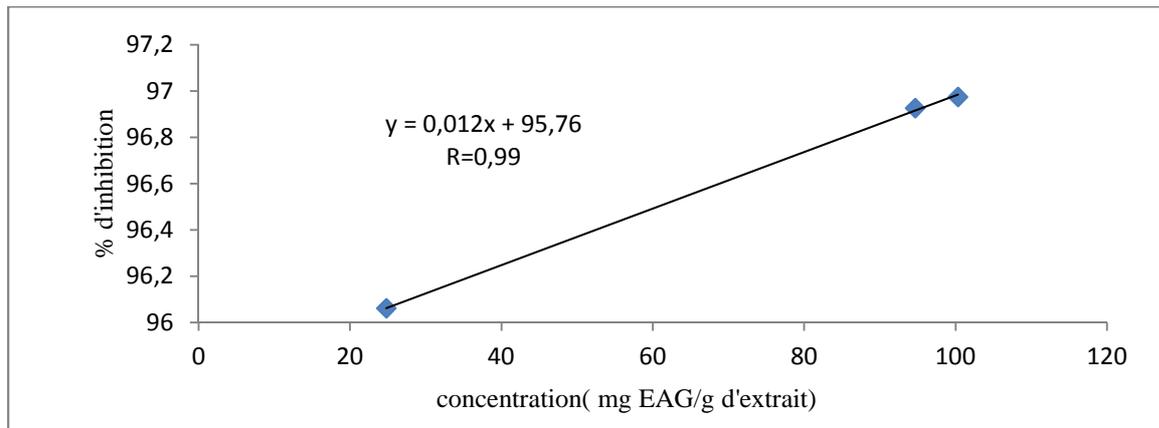


Figure 10: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *Camellia sinensis*.

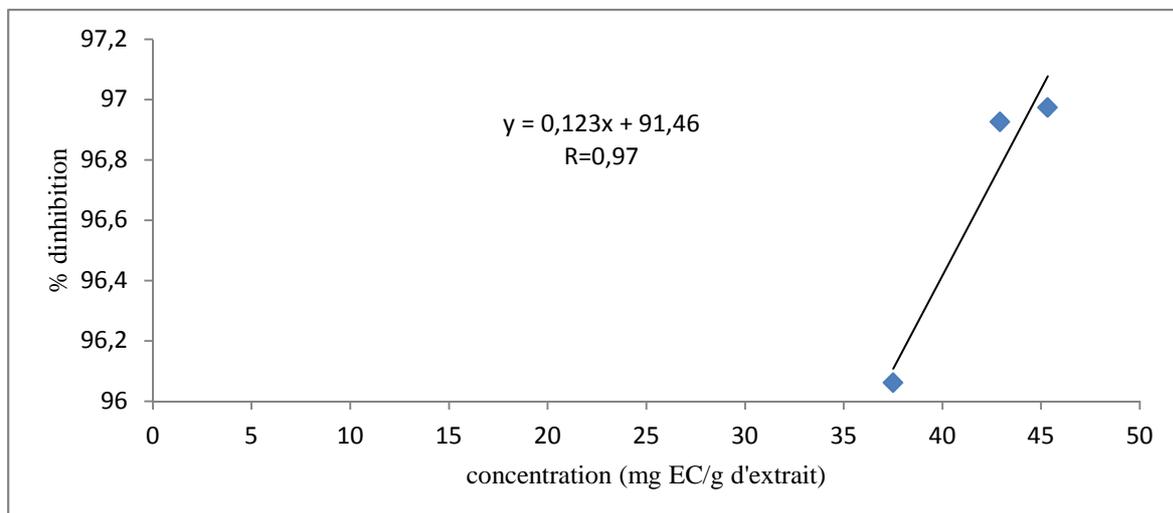


Figure 11: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en tannins condensés des extraits de *Camellia sinensis*.

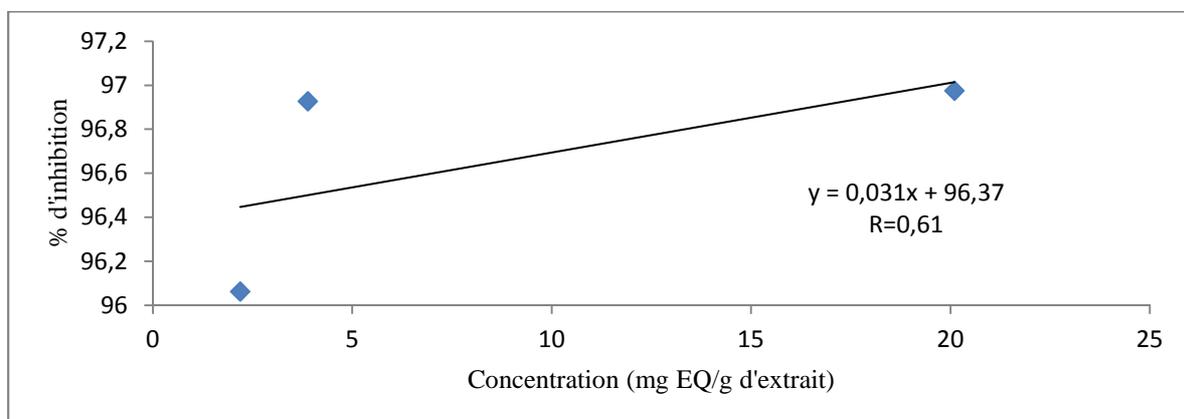


Figure 12: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en flavonoïdes des extraits de *Camellia sinensis*.

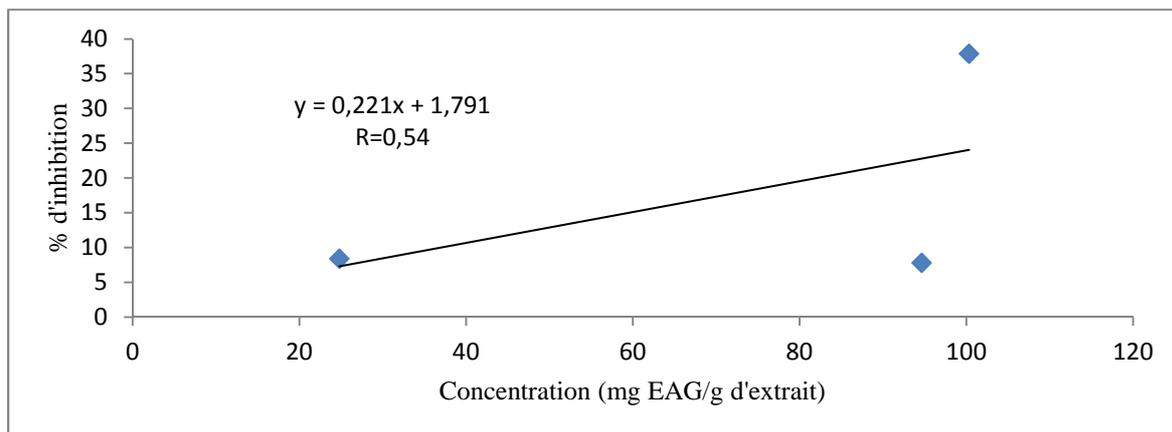


Figure 13: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *Camellia sinensis*.

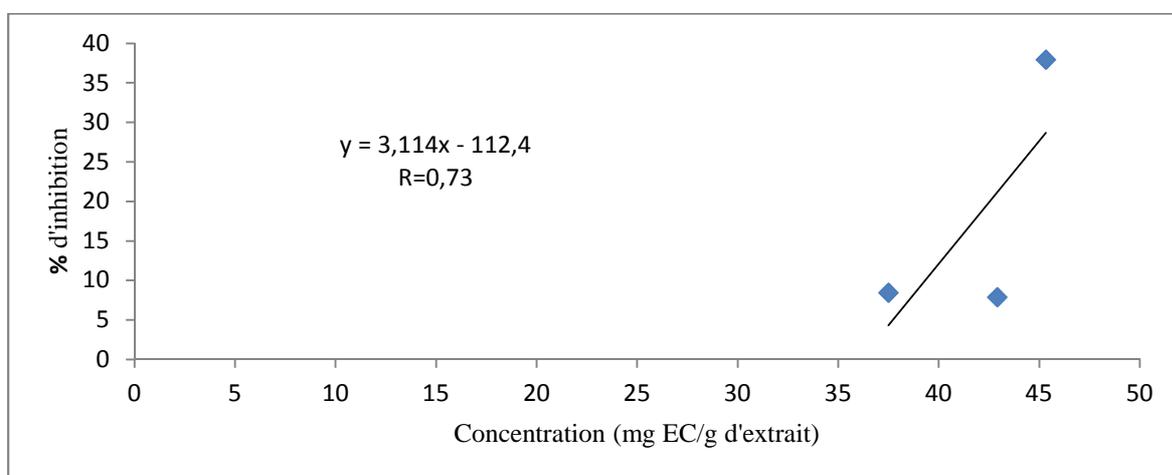


Figure 14: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en tannins condensés des extraits de *Camellia sinensis*.

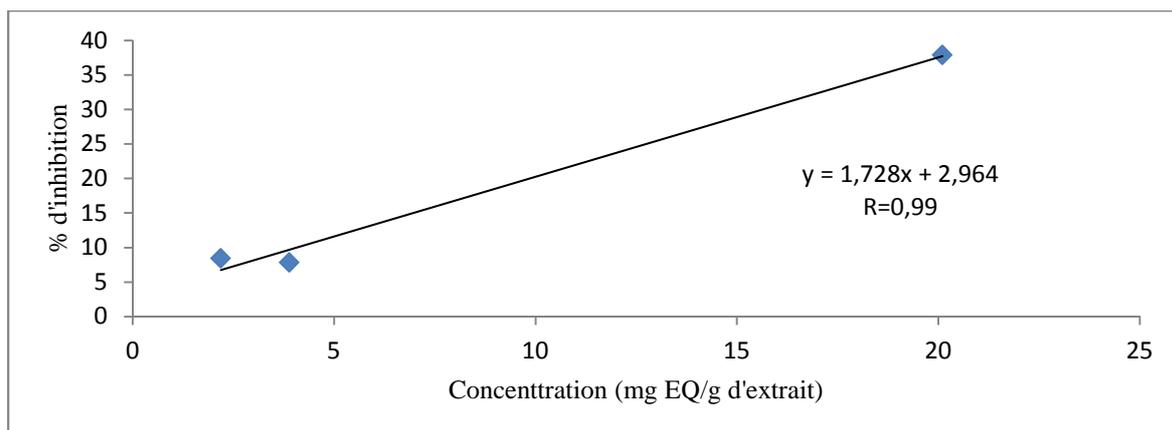


Figure 15: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en flavonoïdes des extraits de *Camellia sinensis*.

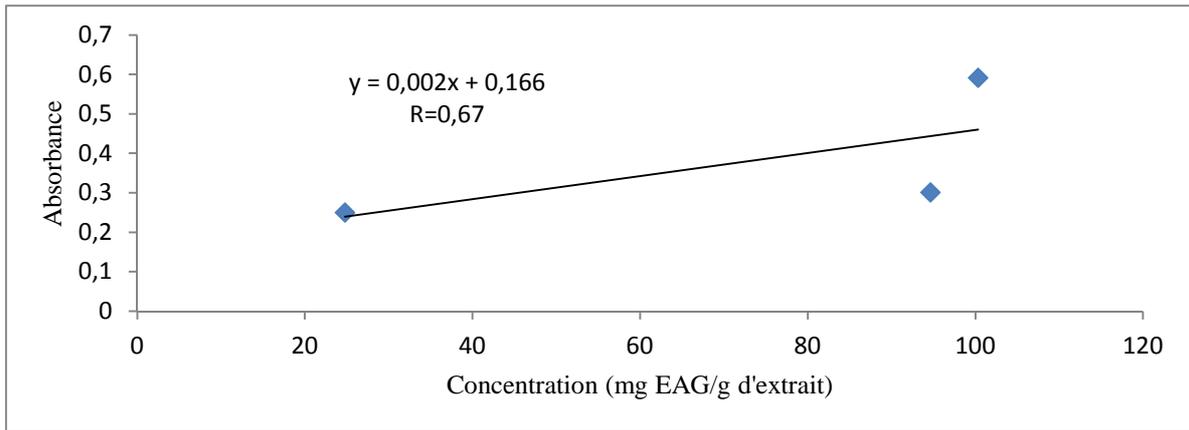


Figure 16: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *Camellia sinensis*.

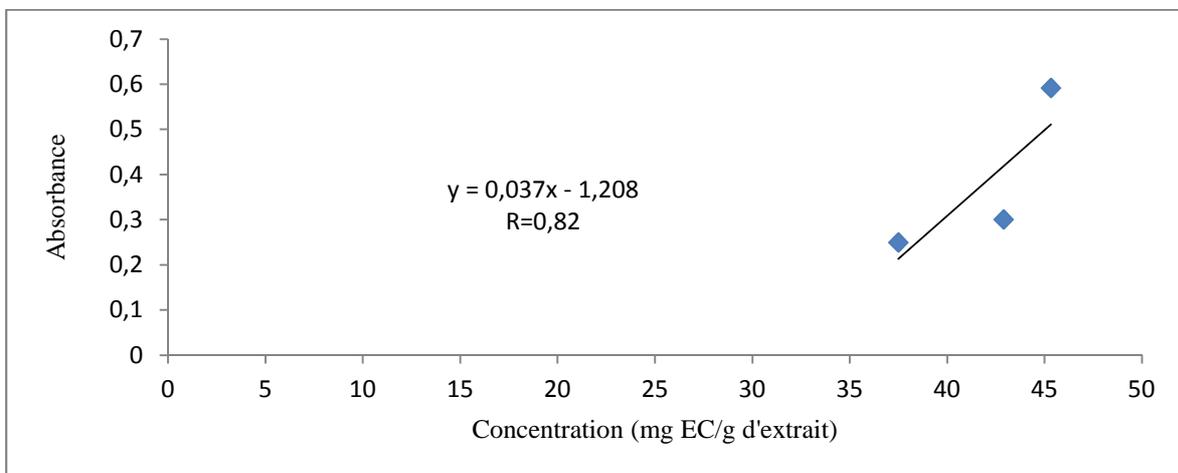


Figure 17: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en tannins condensés des extraits de *Camellia sinensis*.

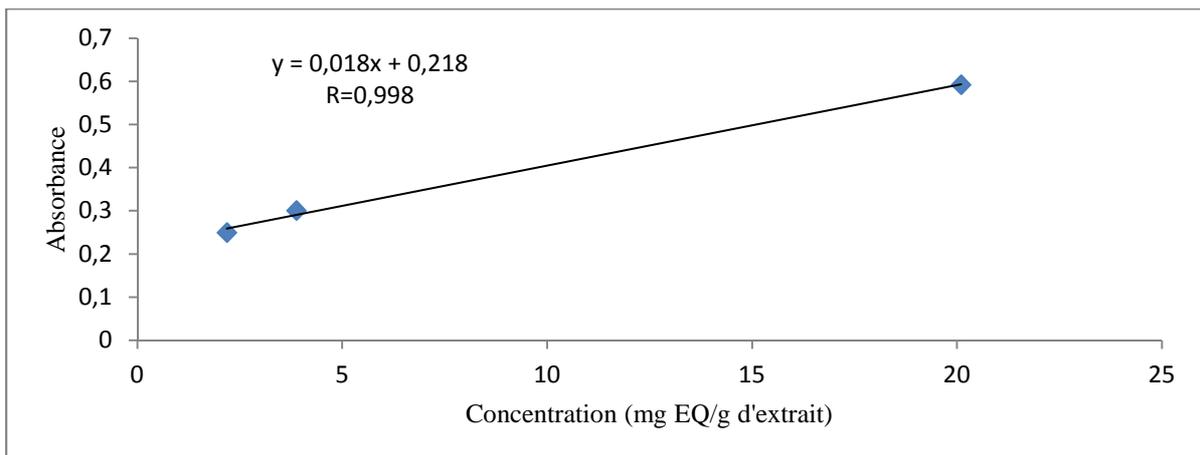


Figure 18: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en flavonoïdes des extraits de *Camellia sinensis*.

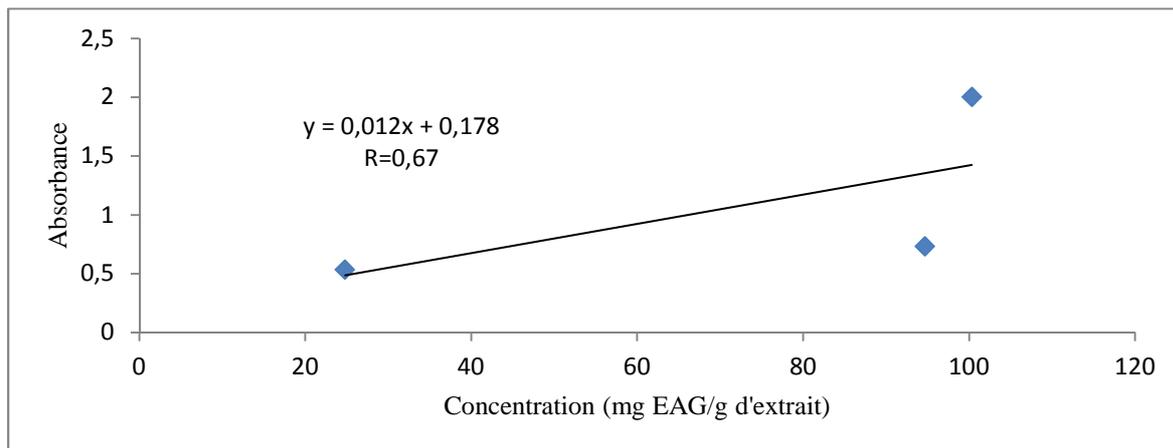


Figure 19: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *Camellia sinensis*.

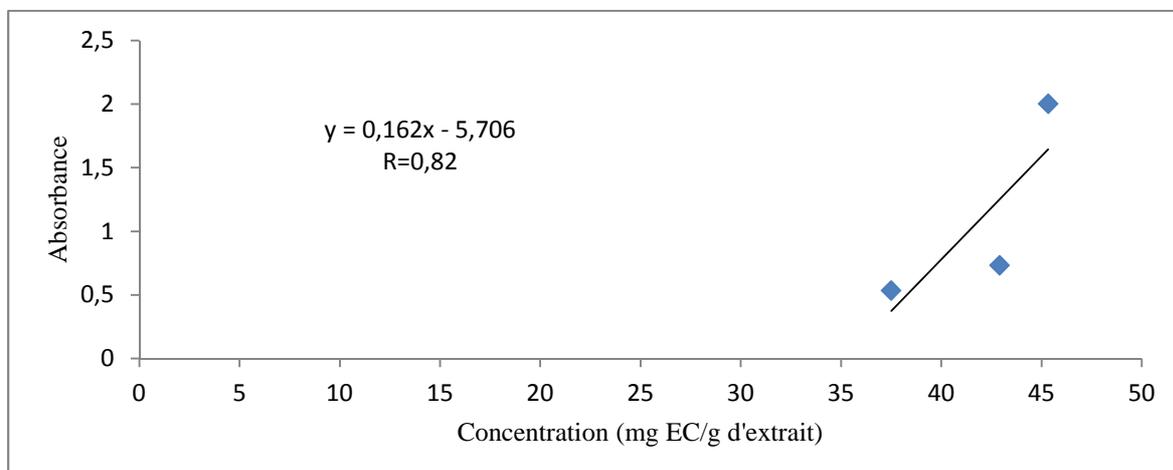


Figure 20: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en tannins condensés des extraits de *Camellia sinensis*.

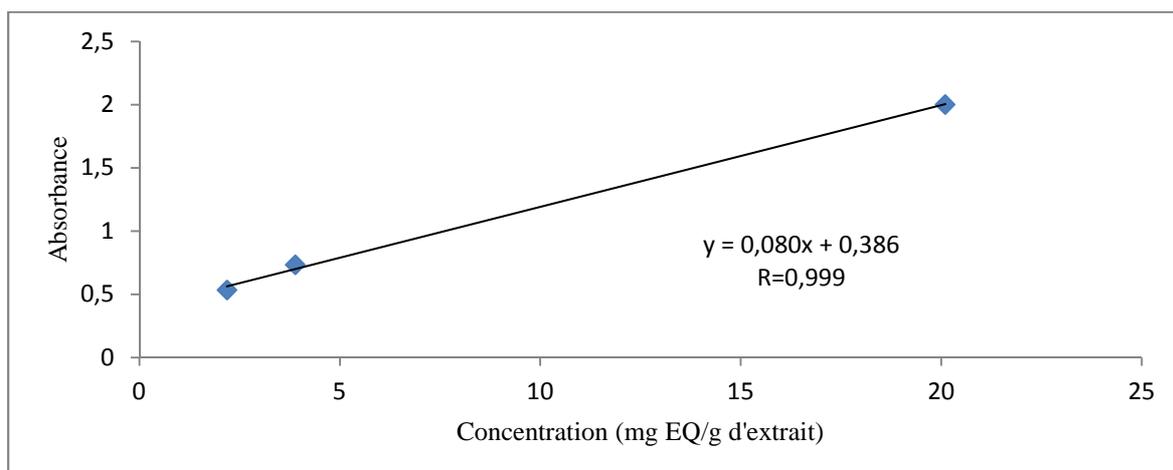


Figure 21: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en flavonoïdes des extraits de *Camellia sinensis*.

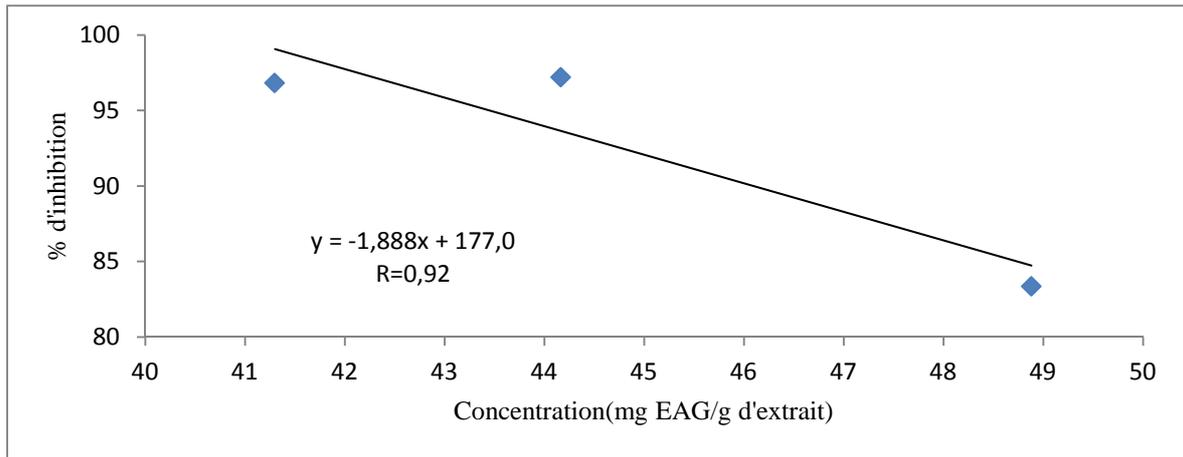


Figure 22: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *hyoscyamus albus*.

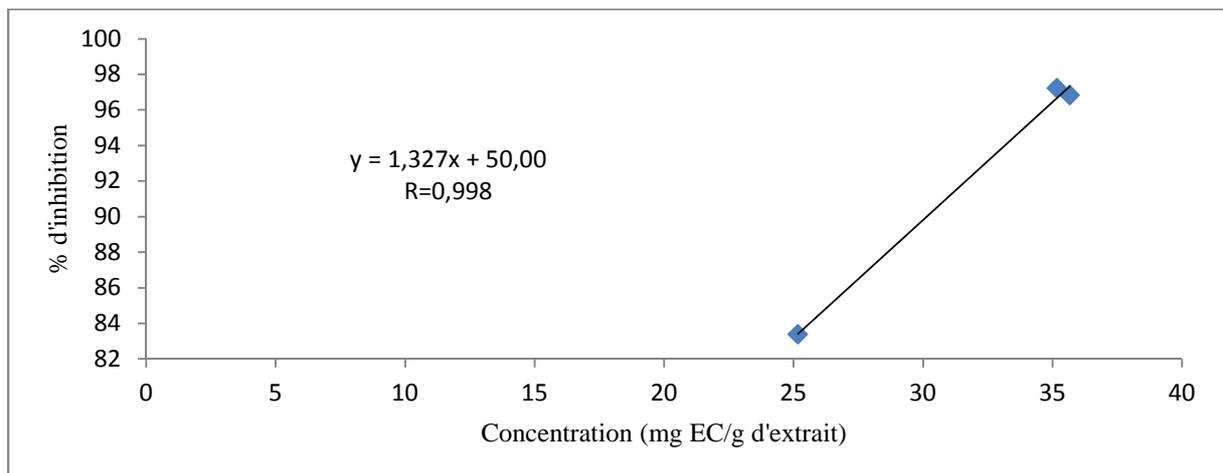


Figure 23: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en tannins condensés des extraits de *hyoscyamus albus*.

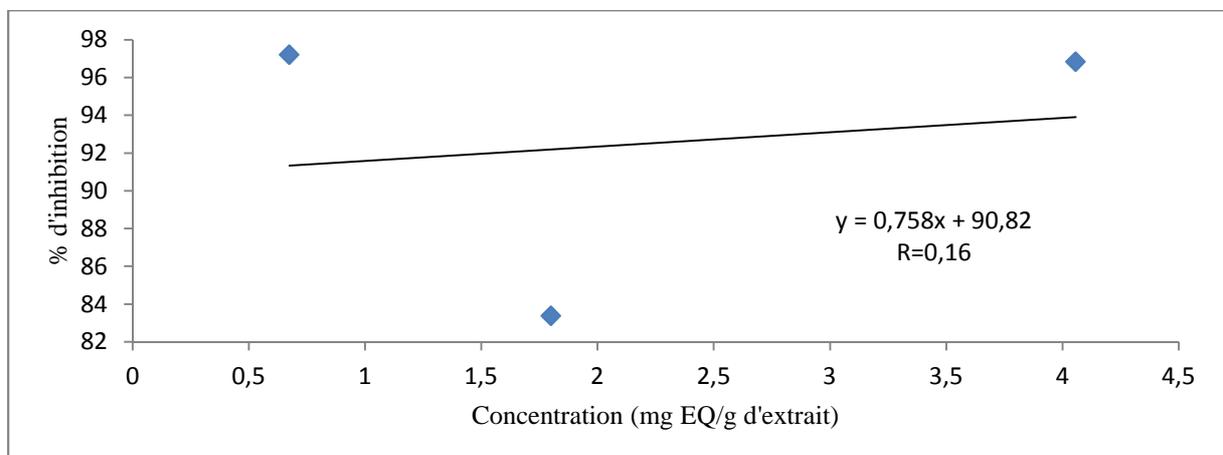


Figure 24: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical DPPH et la teneur en flavonoïdes des extraits de *hyoscyamus albus*.

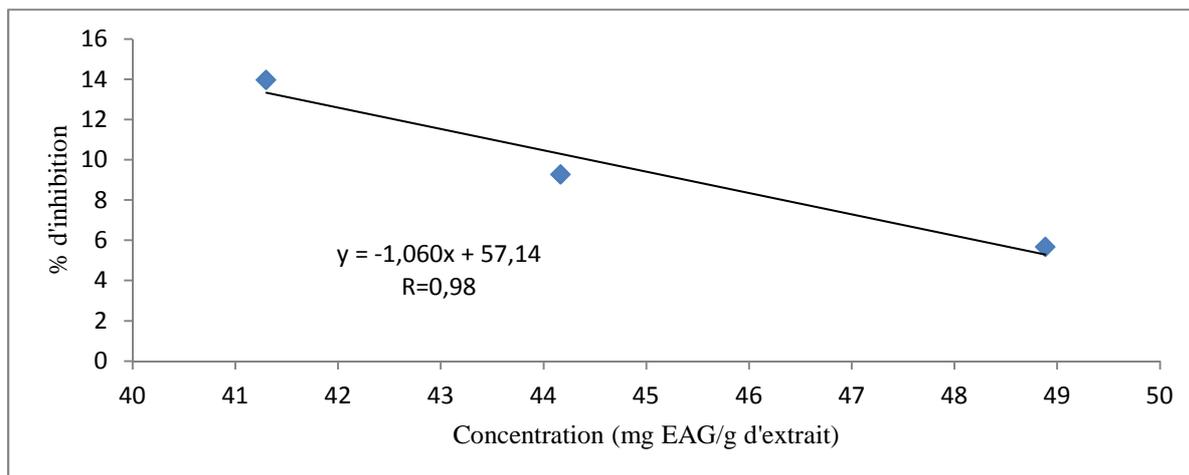


Figure 25: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *hyoscyamus albus*.

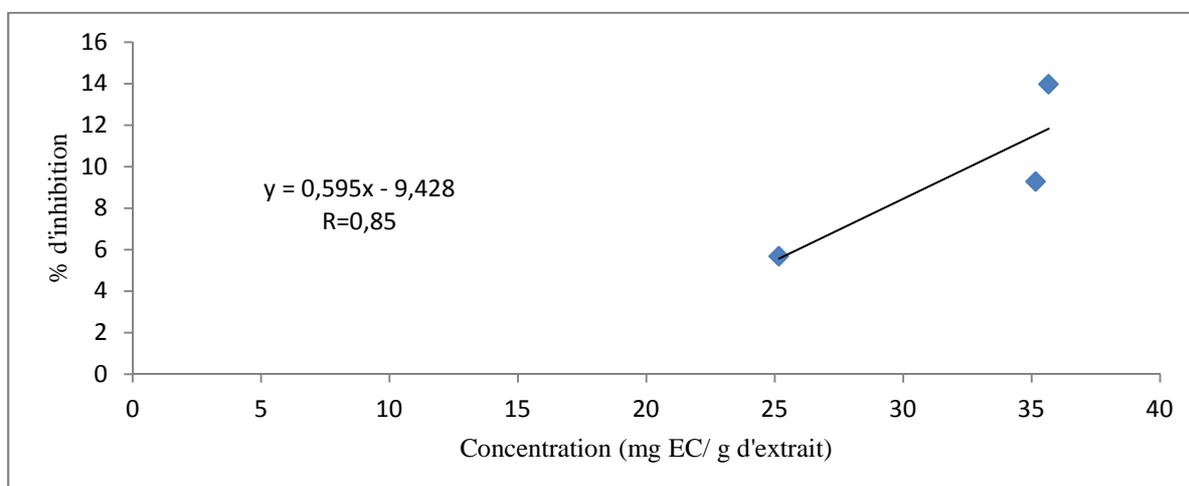


Figure 26: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en tannins condensés des extraits de *hyoscyamus albus*.

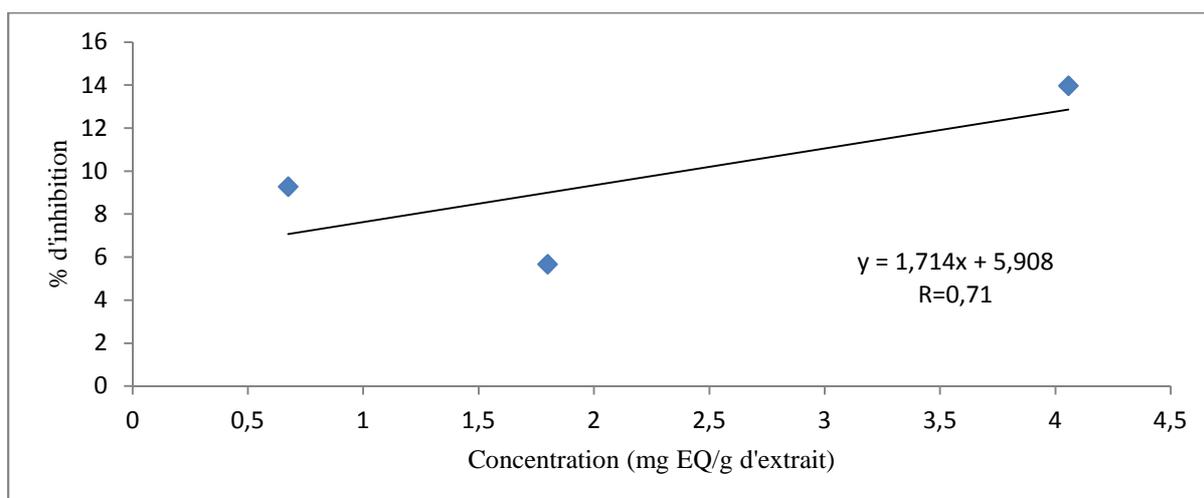


Figure 27: Courbe de corrélation entre l'activité scavenging du radical ABTS et la teneur en flavonoïdes des extraits de *hyoscyamus albus*.

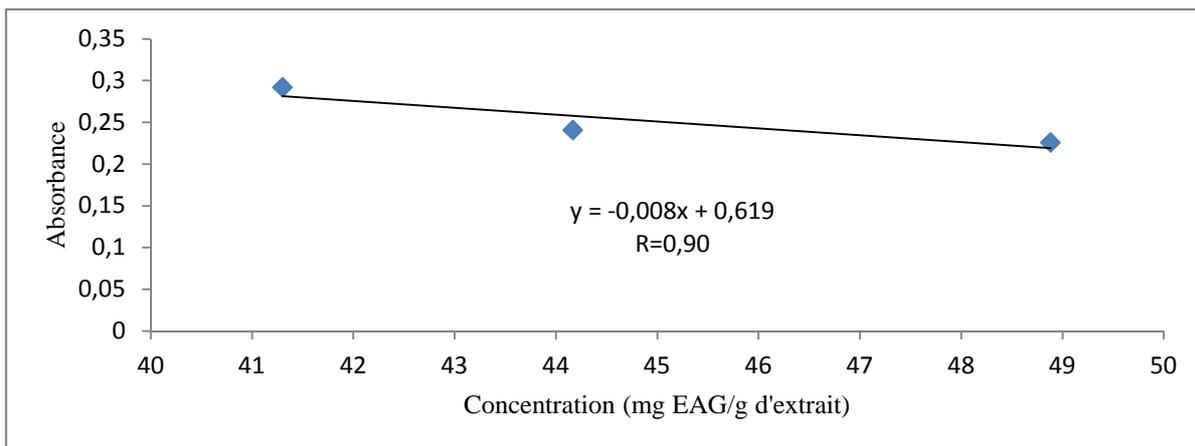


Figure 28: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *hyoscyamus albus*.

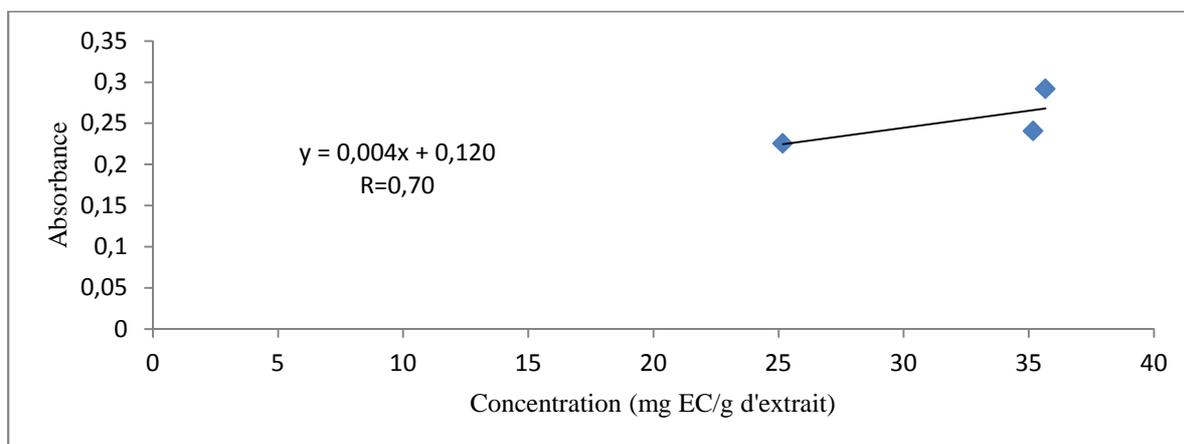


Figure 29: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en tannins condensés des extraits de *hyoscyamus albus*.

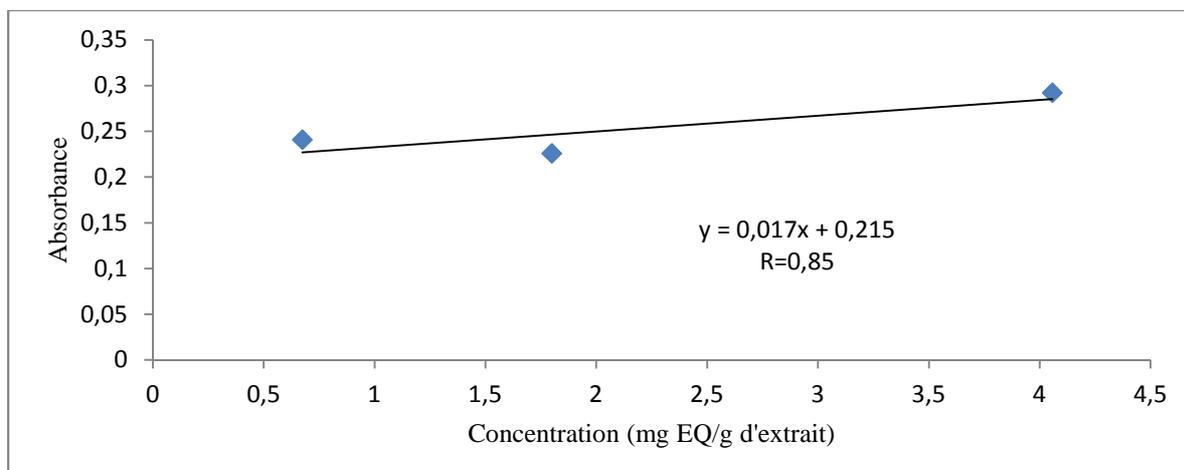


Figure 30: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 0,5mg/ml et la teneur en flavonoïdes des extraits de *hyoscyamus albus*.

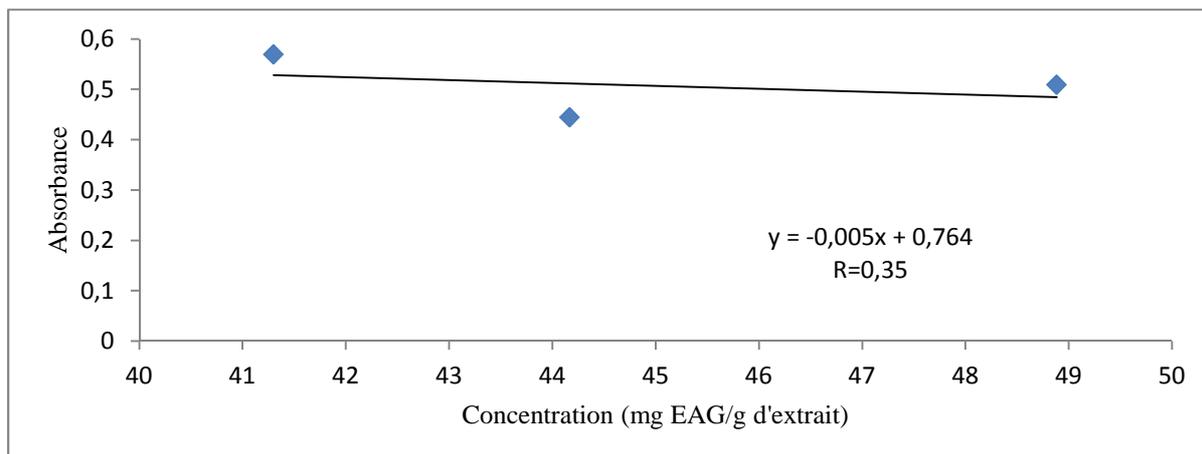


Figure 31: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en polyphénols totaux des extraits de *hyoscyamus albus*.

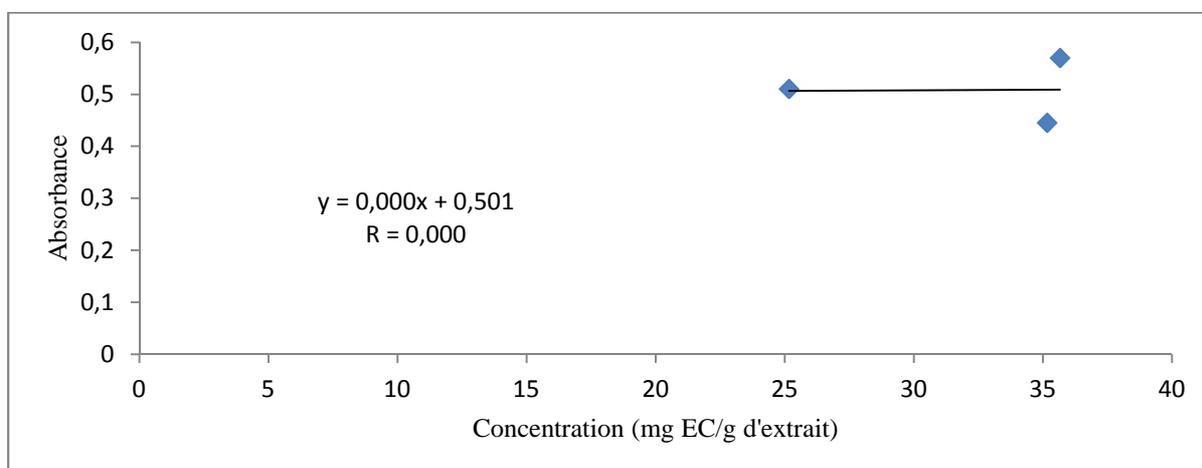


Figure 32: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en tannins condensés des extraits de *hyoscyamus albus*.

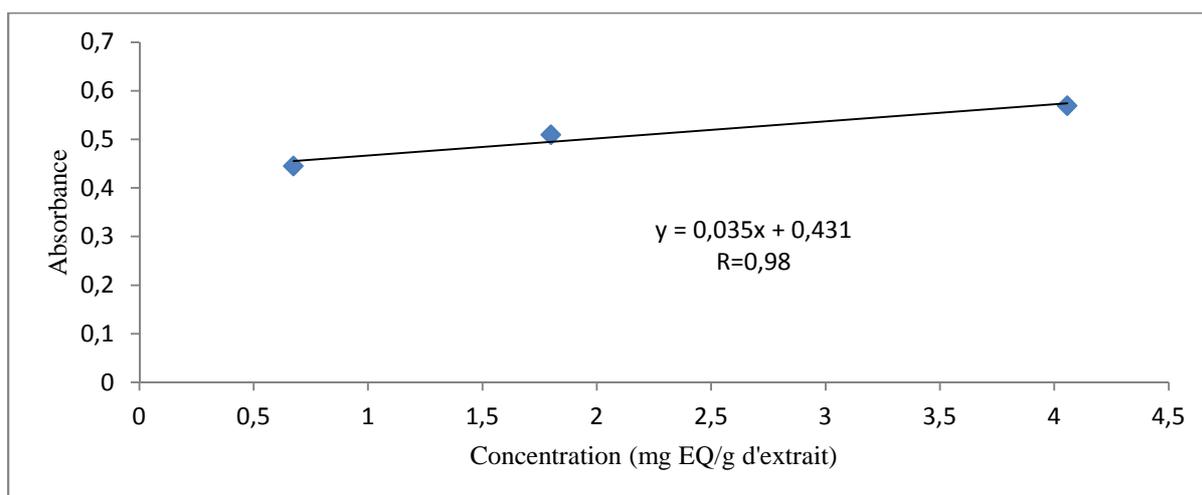


Figure 33: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur 1 mg/ml et la teneur en flavonoïdes des extraits de *hyoscyamus albus*.

Résumé

Les antioxydants jouent un rôle fondamental dans l'élimination de l'excès toxique en espèces réactives de l'oxygène à l'origine de diverses maladies dégénératives. Ainsi, l'exploitation des molécules végétales naturelles serait très bénéfique pour la santé humaine. Par conséquent, cette étude a pour objectif l'évaluation de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques des extraits à partir de deux plantes médicinales locales, *Camellia sinensis* et *Hyoscyamus albus*, après, bien évidemment, avoir obtenu les différents extraits des feuilles de *C.sinensis* et de la partie aérienne de *H.albus*. Le dosage des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, et tanins condensés) est réalisé pour pouvoir faire une appréciation qualitative et quantitative ; puis, la mesure de l'activité anti-oxydante des extraits en réalisant trois tests: l'activité scavenging du radical DPPH⁰, ABTS^{•+}, le pouvoir réducteur. Les résultats expérimentaux ont révélé que les extraits de *C.sinensis* ont été riches en polyphénols totaux (24,8±0,83 à 100,33±5,14) mg EAG/g d'extrait, ont montré des concentrations modérées en flavonoïdes et ils ont exhibé des teneurs appréciables en tanins condensés, par contre *H.albus* possède des teneurs appréciables en polyphénols totaux (41,3±1,35 à 48,88±3,04) mg EAG/g d'extrait, tanins condensés et des faibles teneurs en flavonoïdes. Quant aux activités antioxydantes de la plante, les extraits sont de très bons scavengers du radical DPPH (l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique a été de 5,06µg/ml (*C.sinensis*) et de 30,54 µg/ml (*H.albus*)). En revanche, ABTS et le pouvoir réducteur sont faibles. Ces constatations nous laissent imaginer des études plus poussées sur des extraits d'une panoplie de plantes médicinales afin d'en bénéficier d'avantage.

Mots clés: *Camellia sinensis*, *Hyoscyamus albus*, activité antioxydante, antioxydants, composés phénoliques.

Abstract

The antioxidants play a basic role in the elimination of the toxic reactive oxygen species excess. Thus, the exploitation of natural plant molecules will be very beneficial for the human health. Therefore, the aim this study is the evaluation of the anti-oxidant activity of the phenolic compounds extracted from our local medicinal plants, *Camellia sinensis*, and *Hyoscyamus albus* that by doing two types of manipulations, of course, after getting the different plant leaves of *C.sinensis* and aerial part of *H.albus* extracts. First, we quantified the phenolic compounds amounts (total phenolics, flavonoids, and condensed tannins), in order to make a qualitative and a quantitative assessment. Then, we realized the anti-oxidant activity assays such as: the DPPH⁰ and the ABTS^{•+} radical scavenging activity and the reducing power. The experimental results revealed that *C.sinensis* extracts were rich in total phenolics (24,8±0,83 à 100,33±5,14) mg EAG/g for extract, showed moderate levels of flavonoids and they exhibited significant levels of condensed tannins. Reverse against, *H. albus* extracts were rich in total phenolics (41,3±1,35 à 48,88±3,04) mg EAG/g for extract, and they exhibited significant levels of condensed tannins and low in flavonoids. As for the antioxidant activities of the plants, the extracts were very good scavengers of radicals DPPH (the IC₅₀ of the ethanolic extract was 5, 06 µg/ml (*C. sinensis*) and 30,54 µg/ml (*H. albus*)). whereas, the iron chelating activity and the reducing power were low. These observations lead us toward more studies in this field, so that we get more benefits from our local medicinal plants.

Key words: *Camellia sinensis*, *Hyoscyamus albus*, anti-oxidant activity, antioxidants, phenolic compounds.