

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abderahmane Mira de Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**

*Laboratoire de Biomathématiques, Biochimie, Biophysique et de Scientométries*

**L3BS**

## **Mémoire de Magister**

En vue de l'obtention du diplôme de Magister  
En **Sciences Alimentaires**  
Option : **Sciences Alimentaires**

**Thème**

**Etude du pouvoir de précipitation de la protéine BSA  
des extraits polyphénoliques des plantes médicinales  
de la région de Beni-Djellil (wilaya de BEJAIA)**

Présenté par

**M<sup>elle</sup> DJELILI Farida**

**Soutenu devant le jury composé de**

<b>Président</b>	MAKHOLOUFI L.	(Pr., Université de Bejaia)
<b>Promoteur</b>	CHIBANE M.	(Pr., Université de Bejaia)
<b>Co-promoteur</b>	MADANI K.	(M.A.C.C., Université de Bejaia)
<b>Examineurs</b>	MOALI N.	(M.C., Université de Bejaia)
	IGUER-OUADA M.	(M.C., Université de Bejaia)

**Année 2007**

## *Remerciements*

✧ Au terme de ce modeste travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères tout d'abord au « **Bon Dieu** » pour la patience et la santé qui m'ont été utiles tout au long de mon parcours, et aux êtres les plus chers au monde « **Mes Parents** » pour tous les efforts et sacrifices qu'ils ont entrepris afin de me voir réussir.

✧ Toute mon estime et ma respectueuse gratitude vont à Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Monsieur le Pr M. CHIBANE d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération et ma profonde reconnaissance.

✧ Je tiens à remercier, Monsieur le Dr K. MADANI d'avoir suivi mon travail de près et qui a bien accepté d'être mon co-promoteur. Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect et ma profonde reconnaissance.

✧ Il m'est agréable également de remercier les membres de jury :

- Madame le Pr L. MAKHLOUFI de m'avoir consacré de son temps, en nous faisant l'honneur d'accepter de présider le jury. Nous comptons énormément sur ses conseils pour enrichir ce travail.

- Monsieur le Dr M. IGHER-OUADA et Madame le Dr N. MOALI de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce modeste travail. Qu'ils me permettent de leur exprimer ma profonde reconnaissance et ma grande estime.

✧ Je tiens à remercier très chaleureusement Mesdames F. BEJDOU et N. OUKIL pour leur aide inestimable, leurs encouragements et leurs conseils. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

✧ Je n'oublie pas d'adresser mes remerciements aux étudiants de poste graduation Sciences Alimentaires (2004), et à toutes les personnes qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

**« Que Dieu vous accorde, son aide, dans tous vos projets et activités »**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui me sont les plus chers au monde :*

*A ma Grand Mère et mes Parents ;*

*A mes frères (Ouanes, Ouali, Rabah, Riadh) ;*

*A ma très cher sœur Zina ;*

*A mes oncles (Akli et Mokrane) ;*

*A mes tantes (Lynda et Hassina) ;*

*A mon cousin Abd-El Hak et sa petite famille ;*

*A mes cousins et cousines (Arezki, Massi, Kenza et Yasmine) ;*

*A tous mes amis d'hier, d'aujourd'hui et de demain.*

*Farida* 

# SOMMAIRE

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
---------------------------	----------

## **Etude bibliographique**

### **Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales étudiées**

<b>I. Absinthe (<i>Artemisia absinthium</i> L.).....</b>	<b>3</b>
I.1. Généralités .....	3
I.2. Noms vernaculaires .....	3
I.3. Description botanique et habitat .....	3
I.4. Classification botanique .....	4
I.5. Composition chimique.....	4
I.6. Quelques propriétés thérapeutiques.....	6
<b>II. Inule visqueuse (<i>Inula viscosa</i> L.).....</b>	<b>8</b>
II.1. Généralités.....	8
II.2. Noms vernaculaires .....	8
II.3. Description botanique et habitat.....	8
II.4. Classification botanique .....	9
II.5. Composition chimique .....	9
II.6. Quelques propriétés biologiques .....	10
<b>III. Marrube blanc (<i>Marrubium vulgare</i> L.).....</b>	<b>12</b>
III.1. Généralités .....	12
III.2. Noms vernaculaires.....	12
III.3. Description botanique et habitat .....	12
III.4. Classification botanique.....	13
III.5. Composition chimique .....	13
III.6. Quelques propriétés thérapeutiques .....	14
<b>IV. Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....</b>	<b>15</b>
IV.1. Généralités .....	15
IV.2. Noms vernaculaires .....	15
IV.3. Description botanique et habitat .....	15
IV.4. Classification botanique .....	16
IV.5. Composition chimique .....	17
IV.6. Différentes utilisations de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	18
IV.6.1. Utilisation dans l'alimentation.....	18
IV.6.2. Utilisation dans la médecine .....	19

<b>V. Sauge (<i>Salvia officinalis</i> L.)</b> .....	<b>21</b>
V.1. Généralités .....	21
V.2. Noms vernaculaires.....	21
V.3. Description botanique et habitat .....	21
V.4. Classification botanique.....	22
V.5. Composition chimique .....	22
V.6. Quelques propriétés thérapeutiques.....	25

## **Chapitre II : Interaction polyphénols-protéines**

<b>I. Généralités sur les composés phénoliques</b> .....	<b>28</b>
I.1. Définition.....	28
I.2. Classification et structure .....	28
I.2.1. Acides phénoliques et dérivés .....	30
I.2.2. Flavonoïdes.....	30
I.2.3. Tannins .....	30
<b>II. Interaction polyphénols-protéines</b> .....	<b>31</b>
II.1. Généralités .....	31
II.2. Différentes protéines étudiées dans les interactions polyphénols-protéines.....	32
II.2.1. La sérum albumine bovine (SAB) .....	32
II.2.2. Les protéines salivaires.....	32
II.3. Principes de la complexation entre les tannins et les protéines .....	33
II.4. Nature et non-spécificité des sites de liaison .....	34
II.5. Différents types de liaison.....	34
II.6. Paramètres influençant les interactions entre polyphénols et protéines.....	35
II.6.1. Paramètres intrinsèques.....	36
II.6.1.1. Paramètres liés aux molécules de protéines.....	36
II.6.1.2. Paramètres liés aux molécules de polyphénols.....	36
II.6.1.3. Effet du rapport molaire polyphénols/protéines .....	37
II.6.2. Paramètres extrinsèques .....	37
II.6.2.1. Effet du pH.....	37
II.6.2.2. Effet de la température.....	37
II.6.2.3. Effet de la force ionique.....	37
II.6.2.4. Effet des hydrocarbures .....	38

## **Etude expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

I. Matériel végétal .....	39
II. Méthodes .....	40
II.1. Préparation des échantillons .....	40
II. 1. 1. Test d'humidité et séchage.....	40
II. 1. 2. Granulométrie.....	40
II. 1. 3. Extraction des composés phénoliques.....	41

II. 2. Dosage des polyphénols.....	42
II. 2. 1. Dosage des polyphénols totaux et polaires .....	42
II. 2. 2. Dosage flavonoides .....	46
II. 2. 3. Dosage tannins.....	47
II.3. Etude spectrale .....	47
II. 4. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA.....	49
II. 4. 1. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration des extraits polyphénoliques .....	49
II. 4. 2. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration de BSA .....	50
II. 4. 3. Mesure de la densité optique en fonction du pH .....	50
II. 4. 4. Mesure de la densité optique en fonction de la température .....	51
II. 4. 5. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en NaCl .....	51
II. 5. Etude statistique .....	52

## **Résultats et discussion**

I. Préparation des échantillons .....	53
I.1. Test d'humidité et séchage .....	53
I.2. Rendement en extrait sec .....	54
II. polyphénols .....	56
II.1. Polyphénols totaux, polaires et apolaires .....	56
II.2. Flavonoides.....	59
II.3. Tannins .....	60
III. Etude spectrale .....	62
IV. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA .....	64
IV.1. Effet de la concentration d'extrait polyphénolique sur l'interaction polyphénols-BSA.....	64
IV.2. Effet de la concentration de BSA sur l'interaction polyphénols-BSA.....	70
IV.3. Effet du pH sur l'interaction polyphénols-BSA .....	73
IV.4. Effet de la température sur l'interaction polyphénols-BSA .....	76
IV.5. Effet de la force ionique sur l'interaction polyphénols-BSA .....	78

**Conclusion et perspectives..... 81**

**Références bibliographiques .....** 83

**Glossaires**

**Annexes**

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Photographies de <i>Artemisia absinthium</i> L.	<b>4</b>
<b>2</b>	Structure chimique de l'absinthine, de l' $\alpha$ - et de $\beta$ - thuyone	<b>5</b>
<b>3</b>	Structures chimiques de thuyone, de son tautomère $\Delta$ -2,3-thujenol et de $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol	<b>7</b>
<b>4</b>	Photographies de <i>Inula viscosa</i> L.	<b>9</b>
<b>5</b>	Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de <i>Inula viscosa</i> L.	<b>10</b>
<b>6</b>	Photographies de <i>Marrubium vulgare</i> L.	<b>13</b>
<b>7</b>	Structure chimique de quelques composés identifiés dans les feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L.	<b>14</b>
<b>8</b>	Photographies de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<b>16</b>
<b>9</b>	Photographies de <i>Salvia officinalis</i> L.	<b>22</b>
<b>10</b>	Quelques structures chimiques des composés phénoliques de <i>Salvia officinalis</i> L.	<b>24</b>
<b>11</b>	Principe de complexation entre les polyphénols et les protéines	<b>33</b>
<b>12</b>	Différents types de liaison des polyphénols avec les tannins	<b>34</b>
<b>13</b>	Mécanismes monodenté et multidenté proposés par Prigent (2005)	<b>35</b>
<b>14</b>	Les deux mécanismes possibles impliqués dans l'inhibition de l'agrégation entre tannins et protéines par les carbohydrates	<b>38</b>
<b>15</b>	Protocole de dosage des polyphénols totaux	<b>44</b>
<b>16</b>	Protocole de dosage des polyphénols polaires	<b>45</b>
<b>17</b>	Mécanisme de réaction de chlorure d'Aluminium avec les flavonoides	<b>46</b>

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>18</b>	Protocole de dosage des flavonoides	<b>46</b>
<b>19</b>	Protocole de dosage des tannins	<b>48</b>
<b>20</b>	Teneur moyenne en eau et en matière sèche des plantes étudiées	<b>53</b>
<b>21</b>	Taux d'extrait sec des plantes	<b>55</b>
<b>22</b>	Composés phénoliques totaux, polaires et apolaires des extraits de plantes	<b>57</b>
<b>23</b>	Teneur en flavonoides des extraits de plantes	<b>59</b>
<b>24</b>	Quantité de tannins des extraits de plantes	<b>61</b>
<b>25</b>	Spectres des extraits méthanoliques de plantes	<b>63</b>
<b>26</b>	Variations de la DO en fonction de la concentration d'extrait polyphénolique	<b>65</b>
<b>27</b>	Vitesse de formation des complexes en fonction de la concentration d'extraits polyphénolique	<b>69</b>
<b>28</b>	Variations de la DO en fonction de la concentration de BSA	<b>71</b>
<b>29</b>	Différentes possibilités de précipitation des protéines par les polyphénols	<b>73</b>
<b>30</b>	Variations de la DO en fonction du pH	<b>74</b>
<b>31</b>	Oxydation d'un diphénol en diquinone	<b>75</b>
<b>32</b>	Variations de la DO en fonction de température	<b>77</b>
<b>33</b>	Variations de la DO en fonction de la concentration de NaCl	<b>79</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Artemisia absinthium</i> L., identifiés par la GC-MS	<b>6</b>
<b>II</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. extraite par hydrodistillation et analysée par HPLC	<b>17</b>
<b>III</b>	Principaux composés phénoliques et leurs dérivés, identifiés dans les feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	<b>18</b>
<b>IV</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L	<b>23</b>
<b>V</b>	Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L.	<b>23</b>
<b>VI</b>	Fraction de polysaccharid et autres composés identifiés dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L	<b>25</b>
<b>VII</b>	Classification des composés phénoliques	<b>29</b>
<b>VIII</b>	Tableau récapitulatif des différents échantillons	<b>39</b>
<b>IX</b>	Valeurs des vitesses et des concentrations des complexes formés entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA	<b>69</b>

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**APRPs**: Acid PRPs (PRPs acide)

**BPRPs**: Basic PRPs (PRPs basiques)

**BSA** : Bovin Serum Albumine (**SAB** : Sérum Albumine Bovine)

**DO** : Densité Optique

**EAG** : Equivalent en Acide Gallique

**EAT** : Equivalent en Acide Tannique

**EQ** : Equivalent en Quercétine

**GC-MS** : Gas Chromatography-Mass Spectrometry (chromatographie gazeuse-spectroscopie de masse)

**GPRPs** : Glycosyl PRPs (PRPs Glycosylés)

**HIV-1** : Human Immunodeficiency Virus type 1 (virus de l'immunodéficience humaine type 1)

**HPLC** : High-Performance Liquid Chromatography (chromatographie liquide à haute performance)

**HRPs** : Histidins Rich Proteins (Protéines Riches en Histidines)

**HSA**: Human Serum Albumin (**SAH**: Sérum Albumine Humaine)

**kDa** : Kilo Dalton

**LDL** : Low Density Lipoprotein (lipoprotéines de faible densité)

**PKC**: Protéine Kinase C

**PRPs** : Prolines Riche Proteins (Protéines Riches en Prolines)

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**SDS** : Sulfate Dodecyl de Sodium

**TEA** : Triéthanolamine

**TPA** : 12-0-tetradecanoylphorbol-13-acétate

**U.A. H<sup>-1</sup>** : Unité Arbitraire par Heure

**$\Delta^9$ -THC** :  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol

**FT-IR** : Spectrométrie infrarouge par transformée de Fourier

# *Introduction*

## Introduction

Le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à leur richesse en produits dits du métabolisme secondaire. En effet, les plantes sont une source inépuisable de substances qui procurent des propriétés curatives appréciables. Parmi les 400.000 espèces végétales qui existent dans le monde, on estime environ à plus de 20.000 le nombre d'espèces utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une plante ou une molécule active d'origine végétale (Mouchid *et al.*, 2004a).

A l'instar, d'autres contrées du monde, l'Algérie possède aussi des plantes vertueuses assez surprenantes par leur aspect, et leur faculté d'adaptation. En effet, par sa situation géographique privilégiée dans le bassin Méditerranéen, l'Algérie bénéficie d'un climat très favorable. Elle est l'habitat d'un grand nombre d'espèces de plantes aromatiques et médicinales (Baba Aissa, 1991).

Le présent travail traite cinq plantes choisies pour leurs vertus et pour leurs utilisations comme plantes médicinales dans la région de Beni-Djellil. L'intérêt de ces plantes, est lié aux différents principes actifs qu'elles renferment. Parmi eux, figure les composés phénoliques dont un grand nombre de travaux a été consacré, ces dernières années, à l'étude de leurs propriétés ainsi que de leurs mécanismes d'actions (Sokmen *et al.*, 2005). La structure chimique de ces substances leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines (Cowan, 1999). Ces interactions faisant intervenir différents types de liaisons qui dépendent de nombreux facteurs liés au milieu réactionnel et à la structure des molécules mises en jeu (Bennick, 2002).

Un grand nombre de recherches est consacré à l'étude de propriétés biologiques des composés phénoliques des plantes médicinales, dont l'activité antioxydante de ces composés reste l'activité biologique la plus étudiée. Cela justifie le choix de cette étude avec les différents tests que nous avons réalisé, pour étudier les mécanismes interactionnels d'extraits polyphénoliques de quelques plantes médicinales locales, avec la protéine BSA.

Ce travail est divisé en deux parties, dont la première est consacrée à l'étude bibliographique, relative aux plantes étudiées, aux composés phénoliques et leurs propriétés interactionnelles avec les protéines. La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui porte sur la préparation des échantillons de plantes, suivie d'un dosage spectrophotométrique des différents composés phénoliques (polyphénols totaux, polaires et apolaires, flavonoides et tannins). Enfin, l'étude de l'effet de la concentration des extraits polyphénoliques, de la concentration du BSA, du pH, de la température et de la force ionique, sur la formation du précipité entre les extraits polyphénoliques de plantes et la protéine BSA a été entreprise.

# *Etude bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Généralité sur les plantes médicinales étudiées*

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capable de prévenir, soulager ou guérir des malades (Schauenberg et Paris, 2005). La phytothérapie a longtemps utilisé des plantes provenant de plusieurs familles, particulièrement celles qui appartiennent aux familles des lamiacées et astéracées (Wake *et al.*, 2000). C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à réaliser notre étude sur cinq plantes médicinales locale appartenant à ces deux familles.

## **I. Absinthe (*Artemisia absinthium* L.)**

### **I. 1. Généralités**

*Artemisia absinthium* L. appelée communément absinthe, fait partie de la famille des composées, utilisée dès l'antiquité pour ses nombreuses propriétés reconnues par la déesse Artémis qui lui donna son nom (Valnet, 1992 ; Schauenberg et Paris, 2005). Il s'agit d'une espèce d'armoïse, commune des régions arides de l'Europe méridionale, du nord de l'Afrique et de certaines régions de l'Amérique (Gambelunght et Melai, 2002). Autrefois, l'absinthe était utilisée comme agent principal dans la parfumerie des aliments et des boissons (Muto *et al.*, 2003). Son usage prolongé engendre un processus de dégénérescence nerveuse irréversible (absinthisme). L'agent responsable en est l'essence riche en thuyone (Lachenmeier *et al.*, 2006). Cette boisson alcoolisée, légalement prohibée dans plusieurs pays, est encore fabriquée clandestinement. En France, sa consommation est interdite depuis 1915 (Meschler et Howlett, 1999).

### **I. 2. Noms vernaculaires**

Français: Absinthe (Quinlan *et al.*, 2002).

Anglais : Wormwood (Quinlan *et al.*, 2002).

Arabe: Echiba (Djerroumi et Nacef, 2004).

Berbère : Chadjrat meriem (Djerroumi et Nacef, 2004).

### **I. 3. Description botanique et habitat**

L'absinthe, est un sous-arbrisseau vivace, propre des lieux montagneux, il est très répandue dans les endroits incultes et pierreux en zones tempérées (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990). Abondante à l'état sauvage le long des clôtures, au bord des chemins, ect. Cette espèce se cultive, en outre, facilement au jardin (Baba Aissa, 1991). Sa taille varie de 50 à 100 cm. Ses tiges très rameuses, sont duvetées de couleur

blanchâtre, portent des feuilles velues, soyeuses, opposées à la base puis alternées sur le reste de la plante, découpées en trois lobes dentés ; elles sont vertes grisâtres au dessus et vertes argentées en dessous (figure 1b). Les rameaux portent à leurs extrémités de petites fleurs jaunes très discrètes qui se réunissent en capitules globuleux penchées, disposées en grappes composées (figure 1c). L'absinthe dégage une odeur très aromatique due à des essences accumulées dans les glandes sécrétrices de la fleur (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Baba Aissa, 1991 ; Gambelunghe et Melai, 2002).

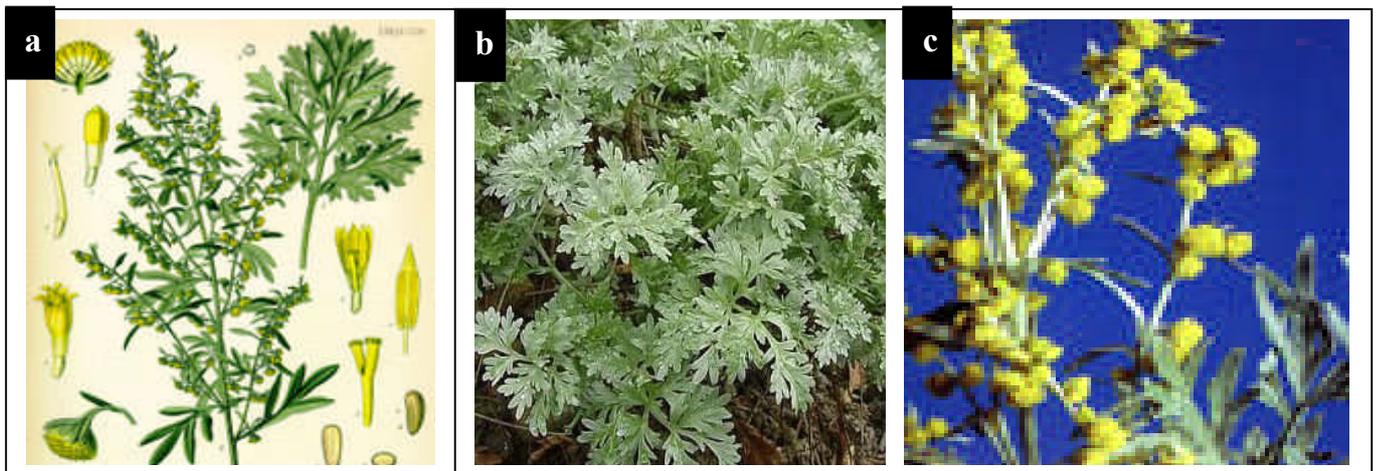


Figure 1: Photographies de *Artemisia absinthium* L. (Anonyme 1, 2006)

#### I. 4. Classification botanique

Selon Guignard (2001), la classification de *Artemisia absinthium* L. est donnée comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astéridés

**Ordre :** Astérales

**Famille :** Astéracées, composées

**Genre :** *Artemisia*

**Espèce :** *Artemisia absinthium* L.

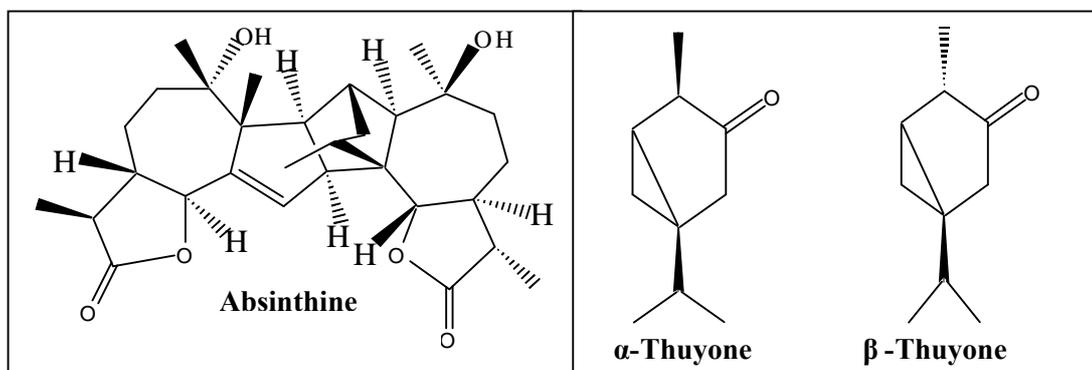
#### I. 5. Composition chimique

L'absinthe contient des principes amers, qui ajoutent leurs effets à ceux des constituants aromatiques pour lui donner des vertus apéritives et cholérétiques (Baba Aissa, 1991). Le plus connu est l'absinthine (figure 2), qui est un lactone sesquiterpénique (Muto *et al.*, 2003 ; Schauenberg et Paris, 2005).

D'autres constituants ont été aussi identifié, il s'agit des flavonoïdes, des caroténoïdes et des lignanes (Gilani et Janbaz, 1995), ainsi que des sels minéraux, des acides organiques (succinique, ascorbique, acétique, malique, etc.) et des tannins (Valnet, 1992 ; Ko *et al.*, 2006 ; Lachenmeier *et al.*, 2006).

▪ **Huile essentielle**

L'huile essentielle de *Artemisia absinthium* L. représente jusqu'à 1,7 % du poids sec (Gambelunghe et Melai, 2002). Elle est riche en cétones terpéniques comme la thuyone ; un mélange d' $\alpha$ - et de  $\beta$ -thuyone (figure 2), qui représente 33 % et 67 % respectivement (Valnet, 1992). D'autres constituants identifiés aussi dans cette huile sont illustrés dans le tableau I.



**Figure 2** : Structure chimique de l'absinthine, de l' $\alpha$ - et de  $\beta$ -thuyone (Gambelunghe et Melai, 2002 ; Lachenmeier *et al.*, 2006)

**Tableau I :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Artemisia absinthium* L., identifiée par la GC-MS (Kordali *et al.*, 2006).

Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
1,8- cinéole	1,5	Oxyde de caryophyllène	4,3
sabinène hydraté	2,9	Cubénol	0,1
Camphre	1,4	β-eudesmole	1,1
Chrysanthénol	-	Chamazulène	17,8
Bornéole	0,6	Acétate de farnesyl	-
Terpinène-4-ol	1,8	Propionate de nuciférole	5,1
p-cymène-8-ol	1,7	Butanoate de nuciférole	8,2
α-terpinéole	2,4	<b>Autres groupes de composés :</b>	
Piperitone	0,1	Hydrocarbures monoterpéniques	0,4
Acétate de bornyle	0,3	Monoterpènes oxygénés	23,5
β-sclinène	2,0	Hydrocarbures sesquiterpéniques	6,0
α- sclinène	-	Sesquiterpènes oxygénés	19,9
Isobutyrate de geranyl	2,3	Diterpènes	0,9
Sesquisabinene hydraté	2,7	Les aromates	40,9
n-butyrate de geranyl	1,7	Autres	2,3
Spathuléole	1,8	<b>Les composés totaux identifiés</b>	<b>93,9</b>

## I. 6. Quelques propriétés thérapeutiques

♦ **Tonique gastrique :** Comme toutes les plantes amères, l'absinthe développe un effet tonique sur l'estomac (Lachenmeier *et al.*, 2006). Son action réside dans l'augmentation de l'appétit, et stimule ainsi la sécrétion du suc gastrique et biliaire (Gambelunghe et Melai, 2002). Cette plante s'avère appropriée dans le cas d'insuffisance hépatique, et dans la phase de convalescence de l'hépatite virale (Gilani et Janbaz, 1995 ; Muto *et al.*, 2003). L'utilisation traditionnelle de l'absinthe dans les maladies hépatobiliaires a été confirmée par des études réalisées par Gilani et Janbaz (1995), sur des rats ayant reçu l'extrait cru de cette plante. Cette étude a montré un effet hépatoprotecteur contre l'acétaminophérène (une substance toxique qui induit des dommages sur le foie).

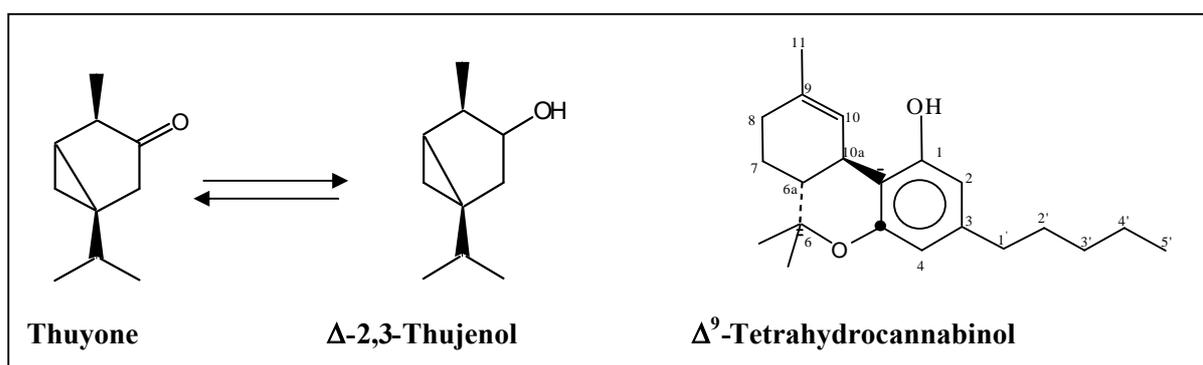
♦ **Vermifuge et emménagogue puissant :** L'absinthe faisant partie des anciennes espèces aromatiques et anthelminthiques, est très efficace contre les parasites intestinaux (Quinlan *et al.*, 2002 ; Guarrera, 2005). Il a été démontré également que la thuyone donne à l'essence son caractère convulsivant, c'est elle aussi qui donne à la plante des propriétés emménagogues et carminatives (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990). L'effet

emménagogue, se traduit par son action sur l'utérus en provoquant la menstruation ; tout en régularisant les cycles (Valnet, 1992 ; Boxtel *et al.*, 2004).

♦ **D'autres propriétés :** D'autres vertus ont été démontrées pour cette espèce ; elle est légèrement fébrifuge, antiseptique et diurétique (Valnet, 1992). C'est également un insecticide efficace sur les pucerons et cochenilles (Muto *et al.*, 2003). L'absinthe a des propriétés anti-inflammatoires, Anti-pyrétiques, anti-cancérigènes, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, etc. (Gilani et Janbaz, 1995 ; Dülger *et al.*, 1999 ; Alzoreky et Nakahara, 2003 ; Ko *et al.*, 2006).

**Effets toxiques de l'absinthe :** L'abus de l'absinthe expose à de nombreux désordres (absinthisme), qui se traduisent par de graves perturbations psychiques, motrices et sensorielles, qui mènent à la déchéance totale de l'individu (Gambelunghe et Melai, 2002 ; Lachenmeier *et al.*, 2006).

La thuyone est utile, mais toxique à des doses importantes (>10  $\mu$ M). Selon Meschler et Howlett (1999), il y'a une similitude structurale entre la thuyone et le  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) (figure 3), un ingrédient actif du cannabis ; utilisé pour certaines drogues douces comme la Marijuana. En 2002, Gambelunghe et Melai, ont démontré que la toxicité de ces deux substances est similaire, puisqu'elles se lient aux mêmes récepteurs du système nerveux central.



**Figure 3 :** Structure chimique de thuyone, de son tautomère  $\Delta$ -2,3-thujenol et de  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (Meschler et Howlett, 1999).

## **II. Inule visqueuse (*Inula viscosa* L.)**

### **II. 1. Généralités**

*Inula viscosa* L., connue également sous le nom de *Dittrichia viscosa* L., appartient à la famille des composées, elle est originaire du bassin méditerranéen (Maoz et Neeman, 2000 ; Hernandez *et al.*, 2001). Elle est distribuée largement dans le sud d'Espagne, le nord de l'Afrique et du moyen orient (Wang *et al.*, 2004). Cette plante se caractérise par les bractées sous les languettes jaunes externe qui sont visqueuses sur l'extérieur et qui justifie son nom. Quant au nom du genre « inule », il dérive du grec « inaien » qui signifie purifier (Mànez *et al.*, 1999). Dans les régions méditerranéennes, *Inula viscosa* L. est utilisée depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle pour ses activités antipyrétiques, et dans le traitement du diabète (Maoz *et al.*, 1999). L'inule jouit d'une grande popularité en Algérie, où elle est utilisée sous forme de suc de feuilles fraîches pour arrêter les hémorragies, prévenir les inflammations et activer la cicatrisation (Baba Aissa, 1991).

### **II. 2. Noms vernaculaires**

Français : Inule visqueuse (Baba Aissa, 1991).

Anglais : Sticky fleabane (Wang *et al.*, 2004).

Arabe : Magramane (Baba Aissa, 1991).

Berbère : Amagramane.

### **II. 3. Description botanique et habitat**

*Inula viscosa* L. est un sous arbrisseau vivace de 40 à 100 cm de haut à tiges dressées, frutescentes à la base, et très feuillées. Ses feuilles sont petites vertes lancéolées, simples alternées, dentelées et visqueuses (figure 4b). Ses fleurs sont jaunes rayonnantes, en capitules assez gros en longues grappes pyramidales (figure 4c). Elle est caractérisée par une croissance rapide avec une multiplication par semence ou division (Baba Aissa, 1991 ; Mànez *et al.*, 1999). Elle pousse sur les lieux incultes et rocailleux dans des sols secs et calcaires (Hernandez *et al.*, 2001). Cette plante est caractérisée par une odeur de camphre, et elle a une saveur amère due à la présence de lactone et de l'acide sesquiterpénique. Les parties utilisées sont surtout les feuilles et rarement les racines (Wang *et al.*, 2004).



Figure 4 : Photographies de *Inula viscosa* L. (Anonyme 2, 2006)

## II. 4. Classification botanique

Selon Guignard (2001), *Inula viscosa* L. est classée comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Astéridées

**Sous classe :** Dicotylédones

**Ordre :** Astéales

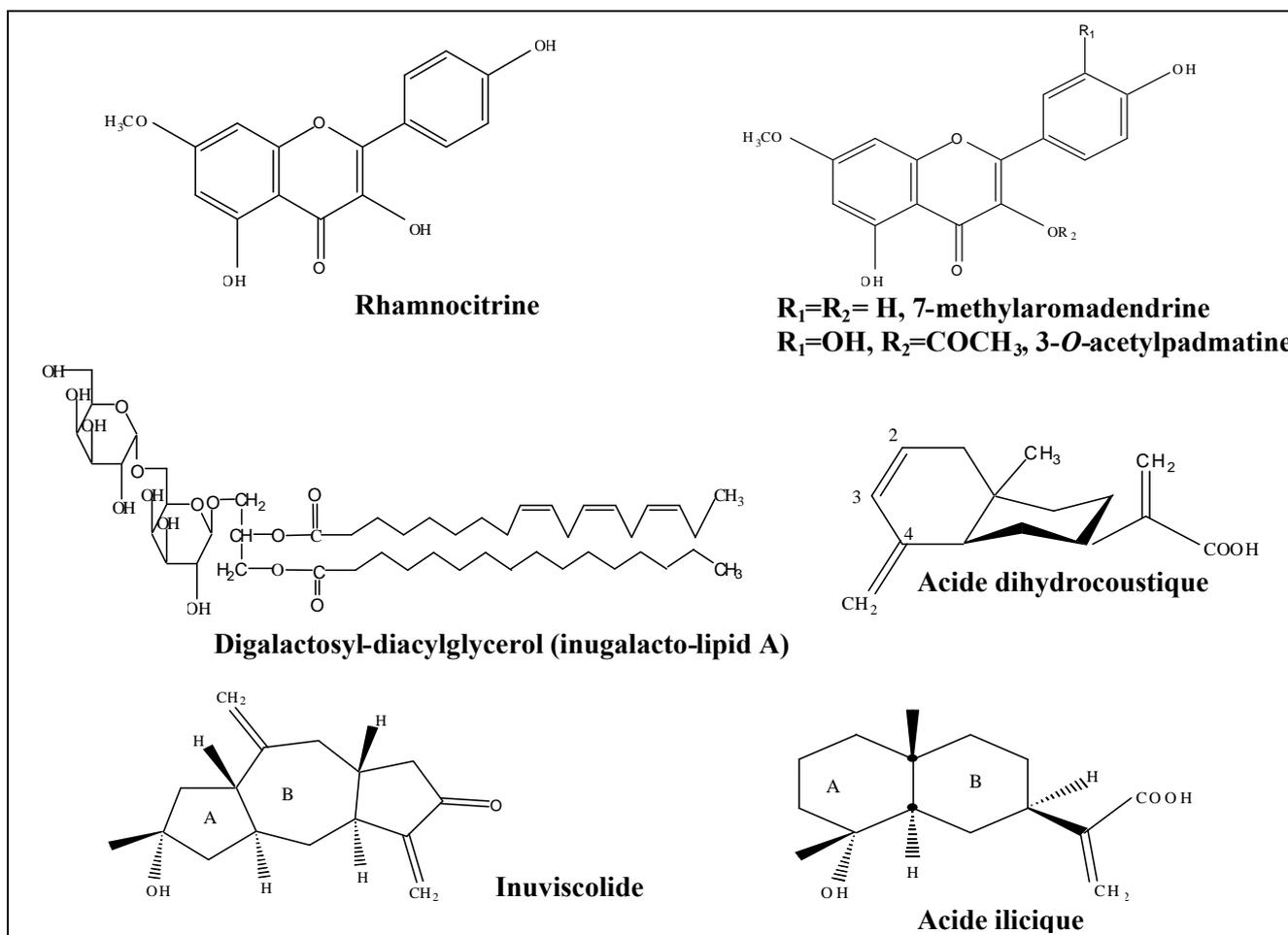
**Famille :** Astéracées, composées

**Genre :** *Inula*

**Espèce :** *Inula viscosa* L.

## II. 5. Composition chimique

La forte odeur et la viscosité des parties aériennes de *Inula viscosa* L. ont été l'objet de plusieurs études. Pour cela, plusieurs extractions dans différents solvants, ont été réalisées (Mànez *et al.*, 1999). A partir d'un extrait du dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), Hernandez *et al.* (2001), ont identifié trois flavonoides (rhamnocitrine, 7-*O*-méthylaromadendrine et 3-*O*-acétylpadmatine), deux sesquiterpénoides (lactone sesquiterpénique : inuviscolide et un acide sesquiterpénique : acide ilicique), un digalactosyl-diacylglycérol (inugalacto-lipide A), et un acide dihydrocoustique (figure 5). Dans l'extrait acétonique Khalil *et al.* (2007), révèlent la présence de tomentosine, acide caustique, acide isocaustique, et d'autres composés phénoliques. Des esters de 9-hydroxynerolidol, acide eudesmane et dix triterpénoides, libres ou estérifiés ont été détectés dans l'extrait méthanolique (wang *et al.*, 2004).



**Figure 5 :** Structure chimique de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Inula viscosa* L. (Mànez *et al.*, 1999 ; Hernandez *et al.*, 2001 ; Hernandez *et al.*, 2005)

### ▪ Huile essentielle

De nombreuses études sont effectuées dans le but d'identifier les constituants de l'huile essentielle de *Inula viscosa* L. (Wang *et al.*, 2004). Un rendement de 0.2 % est obtenu à partir des parties aériennes de cette plante, qui est un mélange de plusieurs constituants dont les principaux composés identifiés sont : p-cymène, carvacrol, bornéol, acétate de bornyle et acétate d'isobornyle (Perez-Alonso *et al.*, 1996).

## II. 6. Quelques propriétés biologiques

♦ **Propriétés antimicrobiennes :** Les extraits aqueux et l'huile essentielle de *Inula viscosa*, ont montré qu'ils possèdent une activité contre les champignons phytopathogènes (exemple : *Botrytis cinerea*) (Maoz et Neeman, 1998 ; Wang *et al.*, 2004). Par contre, très peu d'études ont été rapportées pour l'effet antibactérien des extraits de cette plante (Maoz et Neeman, 2000).

♦ **Propriétés anti-inflammatoires** : *Inula viscosa* est utilisée typiquement dans la médecine traditionnelle comme un agent anti-inflammatoire (Khalil *et al.*, 2007). Elle est largement exploitée dans le traitement des ulcères gastriques, les blessures et aussi comme agent anti-gale ; cette propriété est attribuée à la présence des flavonoïdes (Maoz *et al.*, 1999 ; Ali-Shtayeh *et al.*, 2000 ; Schinella *et al.*, 2002). D'autres constituants de la plante tels que l'inuviscolide et l'acide ilicique, sont très actifs contre une inflammation aiguë induite par le 13-acétate de 12-*l*-tétradécanoylphorbol (ATP). Cet agent exerce son effet inflammatoire par l'activation de la protéine Kinase C (PKC). Contrairement aux sesquiterpènes simples, les lactones sesquiterpéniques sont un groupe doués de nombreuses activités biologiques liées à la présence du cycle lactone dans leurs structures (Hernandez *et al.*, 2001). Un autre constituant, ajoute son effet anti-inflammatoire ; l'acide dihydrocoustique, qui agit sur deux enzymes proinflammatoires : l'élastase et la phospholipase A<sub>2</sub> (Hernandez *et al.*, 2005).

♦ **Effet abortif** : Plusieurs plantes appartenant à la famille des composées ont une réputation dans la médecine traditionnelle, comme agent provoquant l'avortement, mais des études très limitées ont confirmé cette propriété empiriquement. Une étude effectuée sur des rats traités avec l'extrait aqueux de *Inula viscosa* L. pendant la période de gestation, montre une inhibition totale de l'implantation de zygote (Al-Dissi *et al.*, 2001).

♦ **D'autres effets** : En Jordanie, *Inula viscosa* L. est utilisée comme anthelminthique, expectorant, diurétique, dans le traitement de la bronchite, de la tuberculose, de l'anémie, et comme cataplasme pour les personnes souffrant du rhumatisme (Al-Dissi *et al.*, 2001). Elle montre aussi d'autres effets, comme antipyrétiques, antiseptiques, antiphlogistiques et antidiabétiques (Zeggwagh *et al.*, 2006). L'extrait aqueux de cette espèce a une activité contre les nématodes plus forte que celle obtenue par un solvant organique, activité hémostatique sur les blessures externes, analgésique, vermifuge, sudorifique, etc. (Wang *et al.*, 2004). Al-Dissi *et al.* (2001) suggère que cette plante n'exerce aucun effet toxique sur l'Homme.

### **III. Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.)**

#### **III. 1. Généralités**

*Marrubium vulgare* L. est une herbe perenne de la famille des lamiacées, originaire du sud de l'Europe (Sahpaz *et al.*, 2002). Le genre *Marrubium* comprend environ 30 espèces qui sont largement distribuées dans les régions méditerranéennes et asiatiques (Karioti *et al.*, 2003 ; Karioti *et al.*, 2005). C'est une plante qu'on rencontre un peu partout en Algérie, elle est presque considérée comme une panacée dans tout le Maghreb (Baba Aissa, 1991). Elle était déjà reconnue pour ses propriétés apaisantes contre la toux et comme antidote contre plusieurs poisons (Karioti *et al.*, 2005). Dans la Grèce antique l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés, et celles des serpents. En médecine ayurvédique, chez les aborigènes d'Australie, le marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires (Sahpaz *et al.*, 2002).

#### **III. 2. Noms vernaculaires**

Français: Marrube blanc, marrube commun (Schauenberg et Paris, 2005).

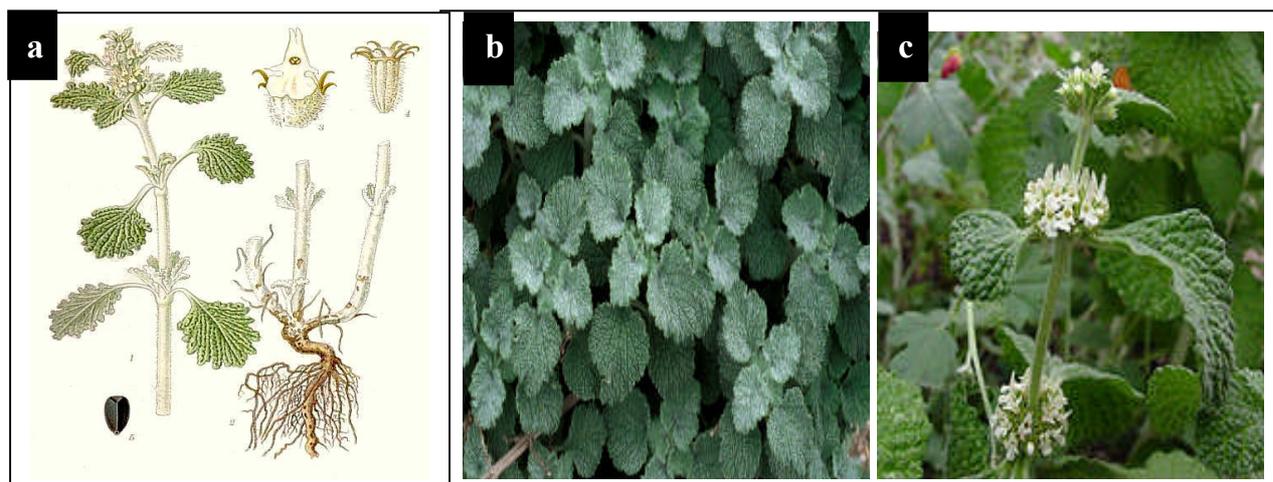
Anglais: Horehound (Schauenberg et Paris, 2005).

Arabe: Badha ouerd (Baba Aissa, 1991).

Berbère: Mériouet (Baba Aissa, 1991).

#### **III. 3. Description botanique et habitat**

*Marrubium vulgare* L. herbe vivace, mesure 30 à 80 cm de hauteur, elle se caractérise par ses feuilles tomenteuses blanchâtres, à odeur pénétrante (Moreno-Jiménez *et al.*, 2006). Les tiges sont épaisses peu rameuses, avec des feuilles pétiolées, ovales orbiculaires, irrégulièrement crénelées (Valnet, 1992). Elles sont opposées deux à deux, aux aisselles desquelles poussent des petites fleurs blanches à corolle, à deux lèvres (figure 6). La culture de cette plante se fait en plein soleil, sol sec et alcalin, les bords des chemins, et sa propagation se fait par semence ou par division. Les parties utilisées sont les feuilles, les fleurs, et dès fois la plante entière (Valnet, 1992 ; Karioti *et al.*, 2003).



**Figure 6 :** Photographies de *Marrubium vulgare* L. (Anonyme 3, 2006)

### III. 3. Classification botanique

Selon Guignard (2001), l'espèce *Marrubium vulgare* L. est classée comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astéridées

**Ordre :** Lamiales

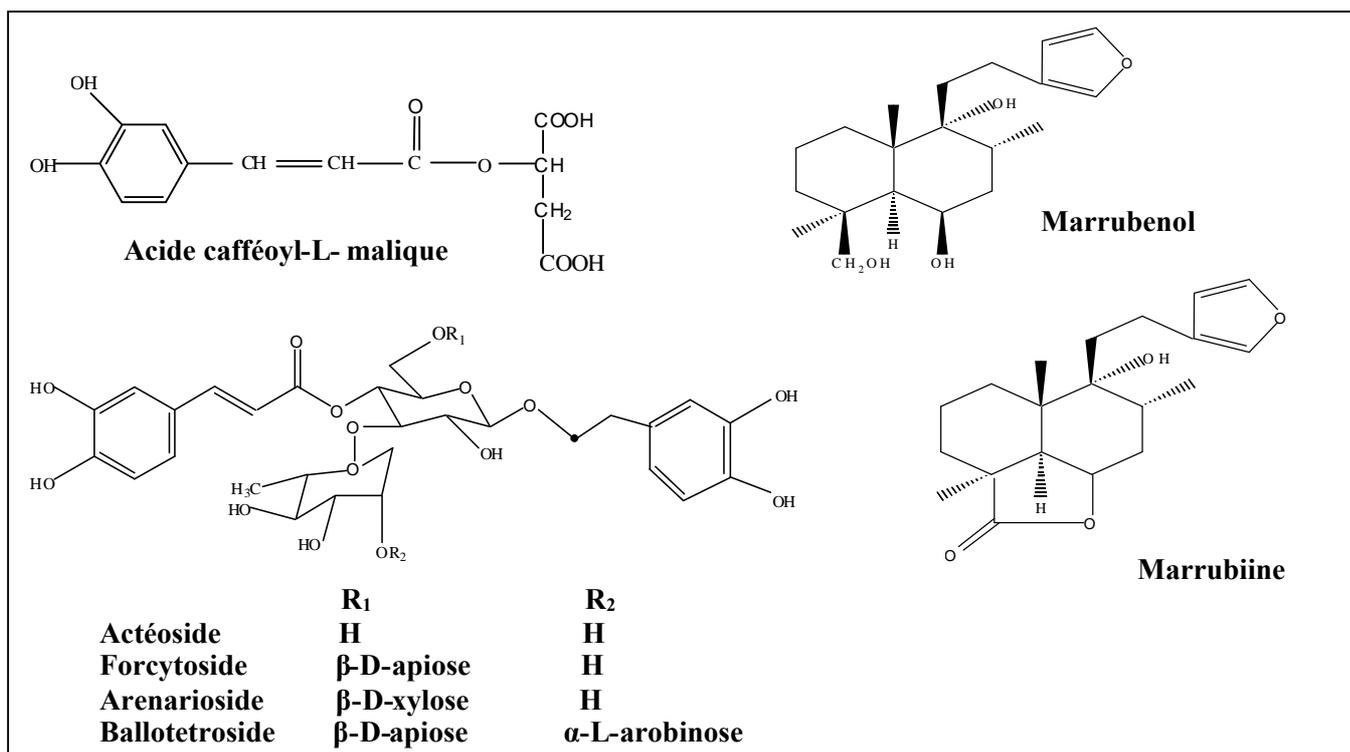
**Famille :** Lamiacées, labiées

**Genre :** *Marrubium*

**Espèce :** *Marrubium vulgare* L.

### III. 5. Composition chimique

Les premières investigations phytochimiques sur *Marrubium vulgare* L. ont conduit à une caractérisation de plusieurs flavonoïdes incluant la lutéoline, l'apigénine, la lutéoline-7-glucosides, la vitexine et des esters d'hétérosides phenylpropanoïdes (Sahpaz *et al.*, 2002). Cette espèce est très connue aussi pour ses diterpènes furaniques, en particulier le marrubiine, qui est un principe amer accumulé en quantités importantes dans les parties aériennes (Knoss *et al.*, 1997 ; Sahpaz *et al.*, 2002 ; Meyre-Silva *et al.*, 2005). D'autres constituants ont été aussi identifiés ; le premarrubiine, le prémarrubenol et le marrubenol (El Bardai *et al.*, 2003a). Les structures chimiques de quelques uns de ces composés sont illustrées dans la figure 7.



**Figure 7** : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Marrubium vulgare* L. (Sahpaz *et al.*, 2002 ; El Bardai *et al.*, 2003b ; Stulzer *et al.*, 2006).

A côté de ces constituants, *Marrubium vulgare* L. possède aussi d'autres principes actifs, tels que, acides phénoliques, tannins, matière pectique, autres diterpènes (peregrinol, vulgarol), sels minéraux, huile essentielle qui est constituée essentiellement de caryophyllène, de trans-caryophyllène, de germacrène-D, de bicyclogermacrène et de trans-anéthol (Valnet, 1992).

### III. 6. Quelques propriétés thérapeutiques

♦ **Propriété analgésique** : Des effets analgésiques, expectorants et cholérétiques de *Marrubium vulgare* L. ont été attribués aux dérivés de diterpène marrubiine et à l'acide marrubiinique (Sahpaz *et al.*, 2002 ; Meyre-Silva *et al.*, 2005). Cet acide présente un effet calmant très significatif, il a été démontré qu'il est 11 fois plus actif que les médicaments utilisés comme références dans l'étude de l'effet analgésique (aspirine, paracétamol) (Sahpaz *et al.*, 2002 ; Meyre-Silva *et al.*, 2005).

♦ **Propriété vasodilatatrice** : Il a été démontré également, que l'extrait aqueux des parties aériennes de la plante, diminue significativement la pression sanguine systolique

chez les rats souffrant d'une hypertension ; cette activité est attribuée aux marrubiine et marrubénol (Sahpaz *et al.*, 2002 ; El Bardai *et al.*, 2003a).

♦ **D'autres Propriétés :** Chez la population mexicaine, l'extrait aqueux des feuilles de cette plante est utilisé dans le traitement du diabète type II (Harrera-Arellano *et al.*, 2004). En outre, cette espèce a des effets toniques, fluidifiants, aseptisants de l'infection pulmonaire, antitoxique, fébrifuges, antioxydants, dépuratifs, anti-inflammatoires, antispasmodiques, amaigrissants et diurétiques (Valnet, 1992). Les principes amers lui confèrent aussi des propriétés apéritives, digestives et balsamiques (Molina-Salinas *et al.*, 2006).

## **IV. Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)**

### **IV. 1. Généralités**

Comme de nombreuses labiées le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est originaire du bassin méditerranéen où il est cultivé dès l'antiquité, mais aujourd'hui on le trouve dans le monde entier (Hui-Hui *et al.*, 2001 ; Sardans *et al.*, 2005). Il possède de nombreuses vertus thérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, et surtout connu pour ses effets antimicrobiens et antioxydants (Abutbul *et al.*, 2004 ; Mounchid *et al.*, 2004a ; Ponce *et al.*, 2004). Le mot romarin ou en anglais rosemary dérive du mot latin « *Rosmarinus* », qui signifie « rose de la mer », appelé aussi « antos » par les anciens Grec, qui désigne une fleur d'excellence (Peter, 2004).

Les anthropologistes ont trouvé que le romarin était utilisé par les égyptiens et les chinois à des fins religieuses et médicinales (Stefanovits-Bányai *et al.*, 2003).

### **IV. 2. Noms vernaculaires**

Français : Herbe aux couronnes, rosemarine, encensier (Teusher *et al.*, 2005)

Anglais: Rosemary (Peter, 2004).

Arabe: Aklil (Baba Aissa, 1991).

Berbère : Amezir (Baba Aissa, 1991).

### **IV. 3. Description botanique et habitat**

Le romarin se présente sous forme d'un arbuste ligneux et aromatique de 50 à 100 cm. Il possède un feuillage dense et persistant. Ses feuilles sont sessiles, coriaces linéaires, enroulées sur les bords, étroites, vertes sombres à la face supérieure et blanchâtres en

dessous (Peter, 2004). Elles sont parcourues par une nervure médiane saillante à la face inférieure (figure 8b). Les fleurs en glomérules rapprochées et forment une sorte d'épi corolle bilabée, bleu pâle le plus souvent maculées intérieurement de violet ou légèrement blanchâtre (figure 8c). La lèvre supérieure forme une sorte de casque à deux lobes, la lèvre inférieure a trois lobes. Leur calice est velu, à dents bordées de blanc. Elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990). Le romarin existe en abondance à l'état sauvage dans les régions arides et sèches en particulier sur sol calcaire surtout sur les collines et les montagnes peu élevées (Marin *et al.*, 2006). Il est répandu partout sous les climats tempérés qui connaissent des hivers doux (Mouchid, 2005).



Figure 8 : Photographies de *Rosmarinus officinalis* L. (Anonyme 4, 2006)

#### IV. 4. Classification botanique

Selon Gaussen *et al.* (1982) la classification de la plante, est décrite comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astéridées

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées, labiées

**Genre :** *Rosmarinus*

**Espèce :** *Rosmarinus officinalis* L.

## IV. 5. Composition chimique

### IV. 5. 1. Huile essentielle

Le romarin, une labiée fort connue fournit une huile distillée à partir de toute la plante ou mieux les sommités fleuries, dans le but d'obtenir une huile essentielle pratiquement incolore dont le parfum vivifiant varie suivant les variétés (Stefanovits-Bányai *et al.*, 2003 ; Lopez *et al.*, 2006). La composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. varie d'une région à l'autre (Mouchid *et al.*, 2005 ; Yassaa et Williams, 2005). À titre indicatif, la composition de l'huile essentielle de cette espèce récoltée au Maroc est illustrée dans le tableau II.

**Tableau II** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. extraite par hydrodistillation et analysée par HPLC (Mouchid *et al.*, 2004b) :

Composé	Quantité (%)	Composés	Quantité (%)
$\alpha$ -pinéne	11,92	Linalole	0,88
Camphéne	4,55	Camphre	15,98
$\beta$ -pinéne	7,71	Bornéole	16,81
$\beta$ -myrcéne	1,41	1-terpinène-4-ol	0,81
p-ciméne	0,93	$\alpha$ -terpineol	2,40
1,8-cinéole	42,00	Borny-acétate	0,73
$\alpha$ -terpinéne	0,86	$\beta$ -caryophyllène	3,60
Terpinolene	0,39		

### IV. 5. 2. Composés phénoliques

Les propriétés du romarin, sont en grande partie attribuées aux composés phénoliques et leurs dérivés, dont les principaux groupes sont illustrés dans le tableau III

**Tableau III** : Principaux composés phénoliques et leurs dérivés, identifiés dans les feuilles de *Rosmarinus officinalis* L.

Classe	Composé	Référence
<b>Acides phénoliques</b>	Acide rosmarinique, Acide caféique, Acide isorinique, Acide férulique et Acide chlorogénique	(Petersen et Simmonds, 2003 ; Peng <i>et al.</i> , 2005 ; Pereira <i>et al.</i> , 2005)
<b>Diterpènes phénoliques</b>	Carnosate de méthyl, Carnosol, Rosmanol, Rosmadial; Isorosmanol, Rosmaridiphénol, Epiisorosmanol, Epirosmanol, Acide carnosolique et Méthoxyepirosmanol.	(Munnè-Bosch et Alegre, 2001 ; Kosaka et Yokoi, 2003 ; Albu <i>et al.</i> , 2004 ; Herrero <i>et al.</i> , 2005 ; Mahmoud <i>et al.</i> , 2005 ; Visanji <i>et al.</i> , 2005 ; Carvalho <i>et al.</i> , 2005)
<b>Triterpènes phénoliques</b>	Acide 19- $\alpha$ -hydroxyursolique Acide 2- $\beta$ -hydroxyoléanolique Acide ursolique $\alpha$ - et $\beta$ -amyrine	Mahmoud <i>et al.</i> , 2005 ; Visanji <i>et al.</i> , 2005 ; Carvalho <i>et al.</i> , 2005)
<b>Flavonoïdes</b>	Scutellareine, Genkwanine, Cirsimarine, Apigénine; Lutéoline, Hespéridine, Cirsimaritine, Diosmine, Lutéoline-3'-glucuronide, Homoplantiginine, 6-hydroxylutéoline 7-glucoside, 4-tetrahydroxyflavone, Methoxytecto-chrysin et Eupafoline.	Petersen et Simmonds, 2003 ; Almela <i>et al.</i> , 2006).

#### IV. 5. 3. Acides organique et acides gras hydroxylés

Des acides organiques ont été mis en évidence dans les feuilles de *Rosmarinus officinalis* L., tels que l'acide glycolique, l'acide citrique et l'acide glycérique (Huang *et al.*, 2005). Des acides gras hydroxylés ont été identifiés aussi dans la membrane cuticulaire du romarin. On cite l'acide 10,16-dihydroxy décanoïque, l'acide 9,10,18-trihydroxyoctadécanoïque et l'acide 6,7,16-trihydroxyhexadécanoïque (Hui-Hui *et al.*, 2001 ; Amin et Hamza, 2005).

#### IV. 6. Différentes utilisations de *Rosmarinus officinalis* L.

##### IV. 6. 1. Utilisation dans l'alimentation

Le romarin a une saveur piquante et parfumée assez prononcée. Il est très estimé en Europe où on l'incorpore aux préparations alimentaires (Celiktas *et al.*, 2006a ; Sacchetti *et al.*, 2005). *Rosmarinus officinalis* L. et *Salvia officinalis* L. possèdent une forte activité antioxydante en inhibant la peroxydation des lipides, et une excellente activité scavenger de l'oxygène actif (Gutiérrez *et al.*, 2003 ; Nassu *et al.*, 2003 ; Persson *et al.*, 2003 ; Wei et Ho, 2006). C'est pourquoi les extraits de ces plantes ont été largement

utilisés pour stabiliser les lipides et les aliments riches en matière grasse (Andrade *et al.*, 2003).

#### IV. 6. 2. Utilisation dans la médecine

♦ **Effets cardiovasculaires :** Les extraits du romarin, jouent un rôle important dans la prévention des maladies cardiovasculaires, particulièrement l'artériosclérose, comme ils inhibent l'oxydation des LDL (Khatib *et al.*, 1998 ; Mounchid *et al.*, 2004c). Ces effets, sont attribués aux propriétés antioxydantes des diterpènes phénoliques (Richheimer *et al.*, 1996 ; Hui-Hui *et al.*, 2001 ; Sacchetti *et al.*, 2005)

♦ **Activité antimicrobienne :** *In vitro* Le romarin est très efficace contre un grand nombre de bactéries et de champignons qui parasitent le système digestif, les voies respiratoires et divers organes (Mangena et Muyima, 1999 ; Haloui *et al.*, 2000 ; Mounchid, 2005). Plusieurs composants de l'huile essentielle de cette espèce, semblent contribuer à l'activité antimicrobienne ; le camphène par exemple, s'est révélé efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ; l' $\alpha$ -pinène, réduit significativement la croissance d'*Erwinia amylovora* et le  $\beta$ -pinène est un inhibiteur pour une large gamme de la population bactérienne (Abu-Shanab *et al.*, 2004 ; Moreira *et al.*, 2005 ; Mounchid *et al.*, 2005). En outre, ces constituants ont un champ d'action très large puisqu'ils inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des levures et moisissures (Dias *et al.*, 2000 ; Mounchid *et al.*, 2004a). L'extrait méthanolique des feuilles du romarin a montré un effet antiparasitaire, contre le *Trypanosoma cruzi* (Abe *et al.*, 2002).

♦ **Effet sur les substances chimiques toxiques :** L'huile essentielle de romarin peut neutraliser les substances chimiques toxiques, comme le tétrachlorométhane (CCl<sub>4</sub>) (Amin et Hamza, 2005). Les constituants de cette huile agissent comme agents naturels de chélation, qui se lient aux métaux et aux produits chimiques synthétiques, pour les éliminer hors de l'organisme (Mounchid *et al.*, 2004c). D'autres études sur les animaux ont indiqué que le romarin possède des effets hépatoprotecteurs et qu'il pourrait inhiber la prolifération des cellules cancéreuses (Offord *et al.*, 1995 ; Munné-Bosch et Alegre, 2001 ; Slaménovà *et al.*, 2002 ; Petersen et Simmonds, 2003).

♦ **Autres propriétés**

- Les propriétés antioxydantes du romarin, ne sont pas exploitées uniquement dans les industries agroalimentaires et médicinales, mais aussi interviennent dans la protection de la plante elle-même contre le stress oxydatif (Munné-Bosch *et al.*, 1999 ; Munné-Bosch et Alegre, 2003 ; Stefanovits-Bányai *et al.*, 2003).
- L'extrait d'herbe de romarin, améliore les fonctions cognitives chez les personnes souffrant de la maladie d'Alzheimer (Kosaka et Yokoi, 2003 ; Adersen *et al.*, 2006).
- Plusieurs activités biologiques ont été attribuées à l'acide rosmarinique telles que, activités astringentes, antimutagènes, antivirales (contre les infections de *l'Herpes simplex*), antioxydantes et anti-inflammatoires (par inhibition de la lipooxygénase et de la cyclooxygénase) (Slamenová *et al.*, 2002 ; Nitzsche *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2005).
- La médecine vétérinaire utilise largement les vertus du romarin, que se soit en usage externe (antiseptique, cicatrisant) ou interne (tonique, cholérétique) (Haloui *et al.*, 2000 ; Kabouche *et al.*, 2005).

♦ **Toxicité :**

Le romarin est dépourvu des effets secondaires toxiques s'il est pris aux doses recommandées. Toutefois, il peut se montrer dangereux et convulsivant à doses excessives (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Peter, 2004). L'étude rapportée par Mounchid *et al.* (2004b), a révélé que l'huile essentielle de romarin ne présente aucune toxicité à une dose inférieure de 50 µl/g, mais possède un effet stimulant des glandes surrénales et de système respiratoire.

## **V. Sauge (*Salvia officinalis* L.)**

### **V. 1. Généralités**

La sauge (*Salvia officinalis* L.), avec plus de 900 espèces, est le genre le plus répandu dans la famille des lamiacées (Hohmann *et al.*, 2003 ; Kamatou *et al.*, 2005 ; Rabbani *et al.*, 2005). Très connue par les égyptiens et les civilisations grec. En latin « salvar », signifie sauver ou éviter et « officinalis » signifie médicinale (Bors *et al.*, 2003 ; Kennedy et Scholey, 2005 ; Tepe *et al.*, 2006). La sauge est typiquement une plante méditerranéenne (Miladinović et Miladinović, 2000 ; Avato *et al.*, 2005). Elle est très populaire et largement cultivée dans plusieurs pays, essentiellement pour obtenir des feuilles sèches pour les utiliser comme matière première en pharmacie et en industrie alimentaire (Santos-Gomes *et al.*, 2002).

Au moyen orient, on l'employait pour traiter certaines complications de santé, telles que les douleurs abdominales (Amin et Hamza, 2005). A l'époque romaine, la sauge était véritablement considérée comme une panacée, et on prit l'habitude de l'appeler « herbe sacrée » (Wichtl et Anton, 1999).

### **V. 2. Noms vernaculaires**

Français: Grande sauge, thé d'Europe, herbe sacrée (Teusher *et al.*, 2005).

Anglais: Sage, great sage, garden sage (Teusher *et al.*, 2005).

Arabe: Souak en nebi, salma (Baba Aissa, 2000).

Berbère : Tazourt (Beloued, 2001).

### **V. 3. Description botanique et habitat**

*Salvia officinalis* L. est un sous arbrisseau de la région méditerranéenne, souvent cultivé dans les jardins (Avato *et al.*, 2005). Il possède de nombreuses tiges quadrangulaires ligneuses, velues, qui mesurent de 50 à 100 cm, recouvertes de feuilles vertes, finement crénelées, qui persistent en hiver grâce à leur revêtement de poils laineux blancs (figure 9b). Les fleurs sont assez grandes, avec une longue corolle de 2 à 3 cm dont la lèvre supérieure est presque droite, d'un bleu violacé nuancé de rose, groupées en épis terminaux, comportant un calice campanulé et bilabié (figure 9c). L'androcée est réduit à deux étamines, son fruit est en forme de tétrakène ovoïde (Palese et Aexhmann ; 1990 Bartel, 1997). Elle pousse sur les terres chaudes des collines rocailleuses et calcaires,

d'une façon spontanée sur des terres arides aux sols bien drainés des régions méridionales ensoleillées, et elle résiste à la sécheresse (Pelikan, 1986 ; Haloran, 2001).



**Figure 9 :** Photographies de *Salvia officinalis* L. (Anonyme 5, 2006)

#### **V. 4. Classification botanique**

La classification botanique de *Salvia officinalis* L. selon Gaussen *et al.* (1982) est :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astéridées

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées, labiées

**Genre :** *Salvia*

**Espèce :** *Salvia officinalis* L.

#### **V. 5. Composition chimique**

##### **V. 5. 1. Huile essentielle**

L'analyse des extraits de *Salvia officinalis* L. a montré que cette espèce contient environ 1.0 à 2.8 % d'huile essentielle (Radulescu *et al.*, 2004 ; Kennedy et Scholey, 2005). Les principaux constituants identifiés dans cette huile, par la GC-MS, sont illustrés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. (Miladinović et Miladinović, 2000).

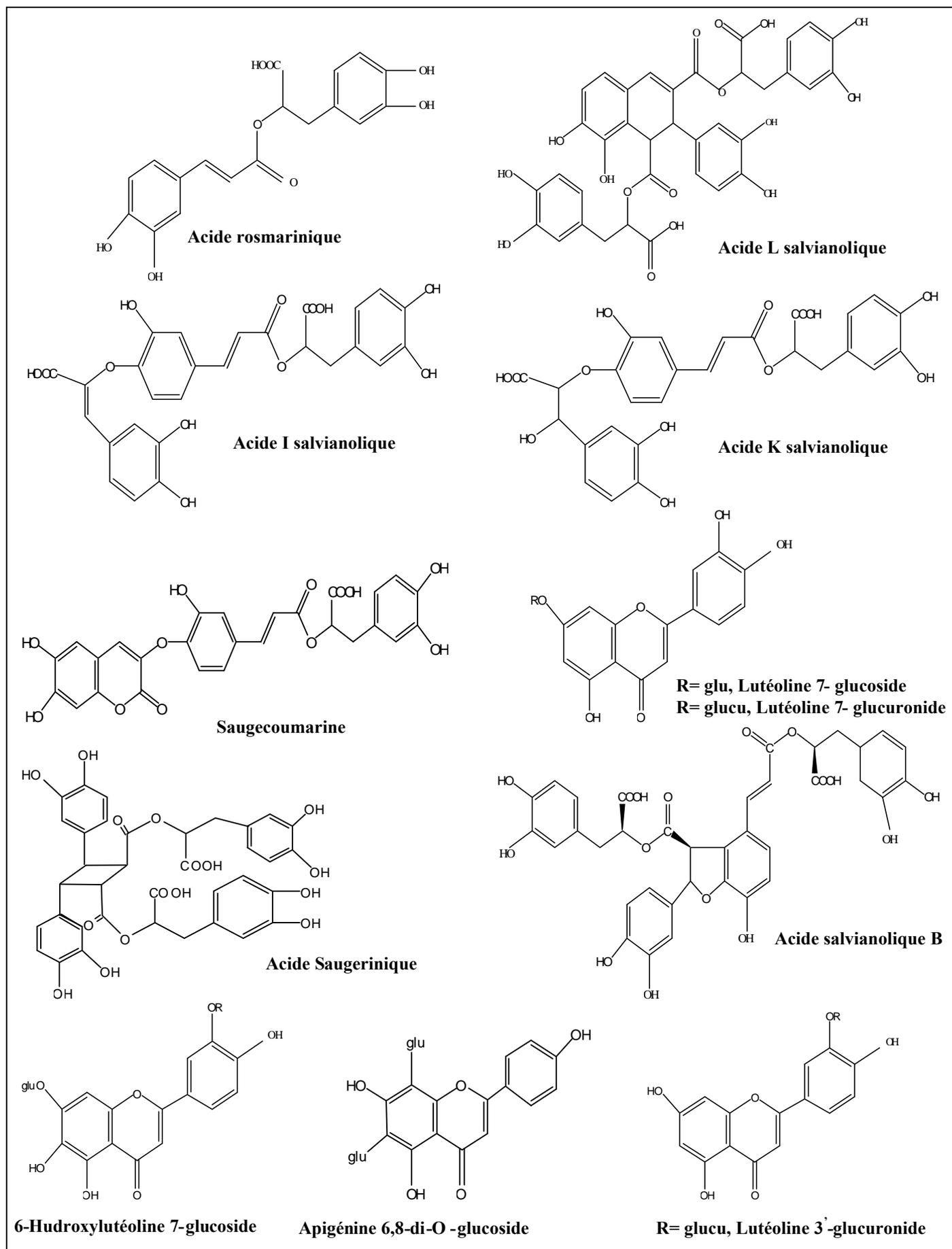
Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
$\alpha$ -thuyène	0,10	$\alpha$ -thuyone	24,88
$\alpha$ -pinène	3,5	$\beta$ -thuyone	8,08
camphène	3,14	camphre	16,03
2- $\beta$ -pinène	0,58	1-bornéole	4,31
$\beta$ -myrcène	0,59	1,4-terpeniole	0,81
$\alpha$ -terpinène	0,89	Acétate d'endobornyl	2,68
1,8-cinéole	9,79	Caryophyllène	0,82
$\gamma$ -terpinène	0,15	$\beta$ -selinène	3,9
veridiflorol	7,87	manool	3,22

### V. 5. 2. Composés phénoliques

La sauge et le romarin possèdent des composés phénoliques similaires (Lu et Foo, 2001). Cependant, beaucoup d'études sur la sauge ont révélé la présence d'une série impressionnante d'oligomères d'acide caféique biologiquement actifs, plus d'autres composés phénoliques (tableau V) (Ninomiya *et al.*, 2004). Les structures chimiques de certains de ces composés sont illustrées dans la figure 10.

**Tableau V** : Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de *Salvia officinalis* L. :

Classe	Composé	Référence
<b>Acides phénoliques</b>	Acide gallique, Acide 3- <i>o</i> -caffeoylquinique, Acide 5- <i>o</i> -caffeoylquinique, Acide caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique et dérivée, Melitrate A méthyl saugecoumarine, Acide saugerinique, Tanshinone II A, Acide lithospermique, Acide yunnanéiques, Acide A melitrique, Acide royleanonique et Acide oléanolique.	(Santos-Gomes <i>et al.</i> , 2002 ; Ninomiya <i>et al.</i> , 2004 ; Amin et Hamza, 2005 ; Bailly <i>et al.</i> , 2005)
<b>Diterpènes phénoliques</b>	Acide carnosolique, Rosmadials, Carnosote de méthyl, Carnosol, Epirosmanol, Epiisorosmanol methyl ether et Epiisorosmanol ethyl ether.	(Lima <i>et al.</i> , 2004; Kennedy et Scholey, 2005 ; Lima <i>et al.</i> , 2005)
<b>Flavonoïdes et dérivés</b>	Hesperidine, Apigenine, Hispiduline, Cirsimaritine, Genkwanine, Lutéoline et Luteoline 7- glucoside.	(Santos-Gomes <i>et al.</i> , 2002 ; Amin et Hamza, 2005)
<b>Tannins</b>	Catéchine et Salviatannins.	(Lu et Foo, 2002)



**Figure 10** : Quelques structures chimiques des composés phénoliques de *Salvia officinalis* L. (Lu et Foo, 2002 ; Bors *et al.*, 2003 ; Lin *et al.*, 2006).

### V. 5. 3. Polysaccharides et autres constituants

L'analyse de la partie aérienne de *Salvia officinalis* L., par le spectre FT-IR, a décelé des bandes caractérisant la composition de la plante en polysaccharides, en protéines et en lipides (Ebringerova *et al.*, 2003 ; Capek et Hribalvã, 2004). Les résultats qualitatifs et quantitatifs en ces composés, sont illustrés dans le tableau VI.

**Tableau VI** : Fraction de polysaccharides et autres composés identifiés dans les feuilles de *Salvia officinalis* L. (Capek *et al.*, 2003).

Constituant identifié	Quantité (%)
<b>La fraction de polysaccharide</b>	
Arabinose	30,4
Galactose	17,9
3- <i>o</i> -méthylgalactose	3,0
Glucose	15,5
Mannose	8,3
Xylose	7,6
Fructose	2,6
Rhamnose	6,7
Acides uronique	8,0
<b>Autres</b>	
Groupements methoxyls	1,7
Protéines	9,4
Matières inorganiques	9,8

### V. 6. Quelques propriétés thérapeutiques

Les feuilles de la sauge sont communément très connues, non seulement comme herbe condimentaire, mais aussi elles possèdent de nombreuses propriétés très exploitées en médecine (Hohmann *et al.*, 2003 ; Ninomiya *et al.*, 2004 ; Eidi *et al.*, 2005).

♦ **Activité antioxydante** : Les effets antioxydants de la sauge, ont été attribués essentiellement à l'acide rosmarinique et l'acide carnosolique (Lu et Foo, 2001 ; Bailly *et al.*, 2005). Cette activité est très appréciée comparée aux plantes ayant un fort pouvoir antioxydant telles que *Ginkgo biloba* et *Panax ginseng* (Tildesley *et al.*, 2005a).

♦ **Activité antimicrobienne** : L'étude menée par Miladinović et Miladinović (2000) a révélé des vertus bactéricides de *Salvia officinalis* L., qui sont liées à la présence d'un acide diterpénique ; la salvine et son ester monométhylque. Cette activité a été confirmée

par des tests microbiologiques sur des germes pathogènes tels que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enteridis* (Abu-Shanab *et al.*, 2004 ; Radulescu *et al.*, 2004). Une activité antifongique est montrée contre *Aspergillus niger* (Pereira *et al.*, 2004 ; Longaray-Delamare *et al.*, 2007).

♦ **Autres effets**

- Plusieurs extraits de cette herbe sont employés dans le traitement de plusieurs types de maladies ; inflammation de la cavité orale, du tractus digestif et intestinal et dans les gastrites (Capek et Hribalvã, 2004 ; Kamatou *et al.*, 2005). Des examens histologiques sur les rats ont révélé la disparition de nécrose hépatique et l'infiltration des cellules inflammatoires après avoir traité ces animaux avec l'infusion aqueuse de *Salvia officinalis* L. (Amin et Hamza, 2005 ; Lima *et al.*, 2005).
- Cette plante est connue depuis longtemps comme antisudorale, ce qu'elle doit à son huile essentielle qui paralyse les terminaisons nerveuses des glandes sudoripares. Cette essence est riche en une cétone terpénique, la thuyone (voir *Artemisia absinthium* L.), convulsivante à haute dose, emménagogue et spasmodique à dose thérapeutique (Leclerc, 1994 ; Radulescu *et al.*, 2004).
- L'extrait aqueux des feuilles de *Salvia officinalis* L. a montré un effet hypoglycémiant, qui a été confirmé par des études *in vivo* (Eidi *et al.*, 2005), cet effet se présume par inhibition de la lipase pancréatique, et une diminution de la concentration du triglycéride dans le sérum (Ninomiya *et al.*, 2004).
- À ces actions de la sauge, s'ajoutent des vertus œstrogènes, cholérétiques et une activité antigonadotrophiques, utilisées également pour traiter les symptômes de la ménopause (Bezanger-Beauquesne *et al.*, 1990 ; Cazzavaca *et al.*, 1999).
- Les dérivés d'acide caféique représentent une autre classe importante des inhibiteurs de la transcriptase reverse de l'HIV-1 (Bailly *et al.*, 2005 ; Ninomiya *et al.*, 2004).
- *Salvia officinalis*, est utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer ; elle augmente la disponibilité synaptique de l'acétylcholine, par inhibition de l'acétylcholine estérase, de ce fait, la sauge aide à améliorer les fonctions cognitives, chez les patients souffrant de cette maladie (Mohammadi *et al.*, 2003 ; Tildesley *et al.*, 2005b).

▪ En usage externe, la sauge est astringente qui est due à la présence de tannins (Volac *et al.*, 1983; Kouhila *et al.*, 2001). D'autres effets curatifs de la plante ont été attribués aux composés de faible poids moléculaire relativement aux quantités élevées des acides phénoliques, des polyphénols glycosylés, des diterpénoides et des flavonoides, et parmi ces effets, on a l'effet antitumorale, immunostimulant, anticoagulant, etc. (Capek et Hribalvã, 2004).

## *Chapitre II*

### *Interaction polyphénols - protéines*

## I. Généralités sur les composés phénoliques

### I. 1. Définition

Les plantes supérieures synthétisent divers métabolites secondaires tels que les terpènes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Lin *et al.*, 2004). Ces derniers, dénommés également polyphénols, constituent un ensemble de molécules largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (Proctor *et al.*, 2005 ; Yoon et Back, 2005). La biosynthèse des composés phénoliques à partir des métabolites primaires suit deux voies principales (la voie des shikimates et la voie des polyacétates) (Richter, 1993). Ces molécules possèdent un ou plusieurs groupements hydroxyle, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique (Richter, 1993 ; Urquiaga et Leighton, 2000 ; Nifli *et al.*, 2005).

### I. 2. Classification et structure

Plus de 8000 structures sont connues pour ces composés naturels (Papadopoulou et Frazier, 2004). Par conséquent plusieurs classifications ont été adoptées pour distinguer les plus importantes d'entre elles. En se basant sur la structure moléculaire et le nombre d'atomes de carbone Ribereau-Gayon (1968) a donné la classification suivante :

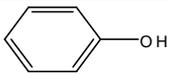
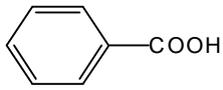
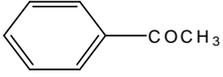
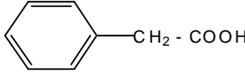
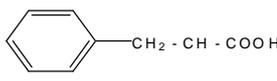
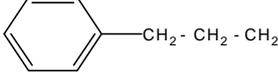
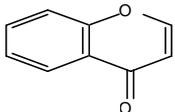
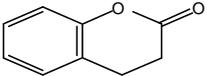
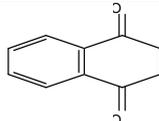
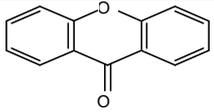
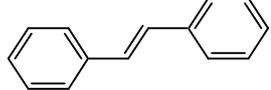
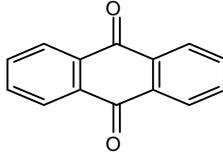
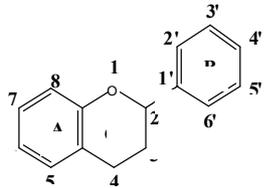
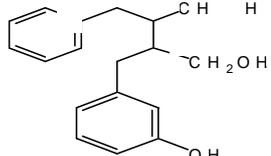
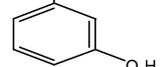
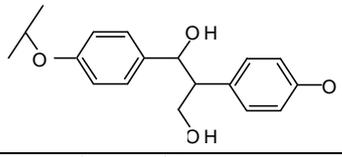
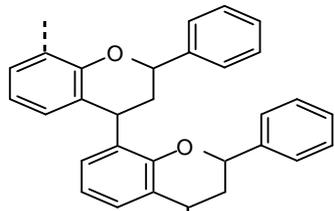
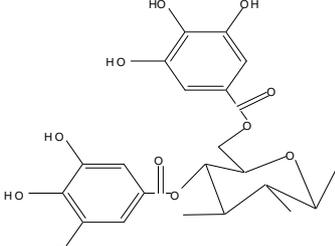
- Acides benzoïques, acides cinnamiques et coumarines.
- Flavones, flavanols et dérivés.
- Chalcones, déhydrochalcones et auronnes.
- Anthocyanes.

Delaveau (1988) regroupe les polyphénols en quatre catégories, selon le nombre d'atomes de carbone :

- Acides phénoliques.
- Flavonoides.
- Anthocyanes
- Tannins.

De meme O'Connell et Fox (2001) a établi la classification indiquée dans le tableau VII, qui est basée sur le nombre d'atomes de carbone et le degré de polymérisation.

**Tableau VII : Classification des composés phénoliques (O'Connell et Fox, 2001)**

<b>Monomères</b>	<b>C<sub>6</sub></b>	Phénol simple 	Benzoquinone 
	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>n</sub></b>	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub></b>	Acide phénolique 
		<b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub></b>	Acétophénone  Acide phénylacétique 
	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub></b>	Hydroxycinnamate  Phénylpropène 	
		Chromone  Coumarine 	
	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>4</sub></b>	Nepthoquinone 	
	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>n</sub>-C<sub>6</sub></b>	<b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub></b>	Xanthone 
		<b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub></b>	Stilbéne  Anthraquinone 
		<b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>	Flavonoïde 
	<b>Dimères</b>	<b>(C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>)<sub>n</sub></b>	Lignane 
<b>(C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>		Lignane 	
<b>Oligomères / Polymères</b>	<b>(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2+n</sub></b>	Lignine (polymère de C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> hydroxycinnamate) 	
	<b>Tannins</b>	Tannin condensé  Tannin hydrolysable 	
	<b>(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>n</sub></b>	Tannin condensé	Tannin hydrolysable

### **I. 2. 1. Acides phénoliques et dérivés**

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol (Ribereau-Gayon, 1968). Cette dénomination est réservée aux acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque ( $C_6-C_1$ ) et aux acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique ( $C_6-C_3$ ) (Urquiaga et Leighton, 2000).

### **I. 2. 2. Flavonoides**

Les flavonoides désignent une très large gamme de composés naturels appartenant aux polyphénols, environ 4000 flavonoides ont été décrits (Bennick, 2002). Leur dénomination vient du latin « flavus » qui désigne la couleur jaune, ce groupe très important et très étendu comprend des composés de couleur jaune, mais aussi de couleurs variées ou même incolores (Richter, 1993 ; Cooray *et al.*, 2004). Les flavonoides représentent un groupe de polyphénols complexes dont la structure comprend deux noyaux aromatiques et un hétérocycle oxygéné, leur structure de base est sous forme de  $C_6-C_3-C_6$ . Ces substances comprennent, les flavanols, les flavanones, les anthocyanidines, les catéchines, les biflavanes, etc. (Ollila *et al.*, 2002).

### **I. 2. 3. Tannins**

Les tannins représentent aussi un groupe important de polyphénols, le terme tannin a longtemps regroupé des composés polyphénoliques condensés caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Linden et Lorient, 1994). Il existe deux groupes de tannins :

#### **▪ Tannins hydrolysables**

Cowan (1999) note que les tannins hydrolysables sont des esters de sucre ou de polyols cycliques avec des acides phénoliques comme l'acide gallique et ses dérivés, en particulier l'acide éllagique ; la polymérisation étant généralement réalisée par l'intermédiaire de liaisons entre les molécules d'acides phénoliques.

#### **▪ Tannins condensés ou proanthocyanidines**

Selon de Bruyne *et al.* (1999), les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères flavaniques, ils sont constitués d'unités flavane dont la liaison se situe généralement entre les carbones  $C_4$  et  $C_8$  ou  $C_4$  et  $C_6$ .

## **II. Interaction polyphénols-protéines**

Les polyphénols ont une large gamme d'effets biochimiques et pharmacologiques, et parmi ces effets figure une propriété importante, qui a fait l'objet de plusieurs études ; interaction des polyphénols avec les protéines. Les polyphénols ont une affinité significative pour les protéines et pour les peptides. Cependant la plupart de ces recherches sont basées sur l'étude des interactions entre les tannins et les protéines (Richard *et al.*, 2006).

### **II. 1. Généralités**

Les tannins sont des polyphénols qui agissent comme barrière protectrice de certaines plantes vis-à-vis de la prédation animale (Hartzfeld *et al.*, 2002 ; Cai *et al.*, 2006). La structure chimique de ces polyphénols leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines (Cowan, 1999). De même la précipitation des protéines salivaires et des glycoprotéines buccales, permet d'expliquer l'action astringente des tissus végétaux avant la maturité (Montis *et al.*, 1980 ; Siebert et Chassy, 2003 ; Poncet-Legrand *et al.*, 2006). Néanmoins, ces interactions peuvent avoir un effet antinutritionnel chez les animaux (Frazier *et al.*, 2003 ; Hagerman et Butler, 1978). Ils perturbent l'absorption minérale, ainsi que l'absorption des acides aminés, provoquent l'inhibition de certaines enzymes digestives et participent au développement de certains cancers (exemple : cancer de l'oesophage) (Wroblewski *et al.*, 2001 ; Frazier *et al.*, 2003 ; Liu *et al.*, 2003).

La communauté scientifique leur confère également des propriétés médicinales chez l'Homme (Simon, 2003). En effet, leurs multiples groupements phénoliques auraient des effets antioxydants, anticancérigènes, antibactériens, ils préviendraient donc les maladies cardiovasculaires, certains cancers et les infections bactériennes (Vergé *et al.*, 2002a ; Morinaga *et al.*, 2005). Cependant, leur tendance à se lier aux protéines peuvent avoir un impact sur leur biodisponibilité et par conséquent, masquage de leur capacité antioxydante *in vivo* (Frazier *et al.*, 2003 ; Alexandropoulou *et al.*, 2006).

## II. 2. Différentes protéines étudiées dans les interactions polyphénols-protéines

### II. 2. 1. La sérum albumine bovine (SAB)

SAB ou en anglais BSA (Bovin Serum Albumin), est un constituant protéique soluble, majeur du système circulatoire, avec beaucoup de fonctions physiologiques (Michnik *et al.*, 2005). La propriété la plus importante de ce groupe de protéines, est qu'elles servent de protéine de dépôt et de transport de plusieurs composés (Papadopoulou *et al.*, 2005 ; Frazier *et al.*, 2006 ; Labieniec et Gabryelak, 2006). Elle est l'une des protéines globulaires les plus étudiées, particulièrement à cause de son homologie structurale avec la HSA (Human Serum Albumin) (Frazier *et al.*, 2006).

### II. 2. 2. Les protéines salivaires

La salive contient un mélange de protéines qui varie d'une espèce à l'autre. Les protéines salivaires humaines ont fait l'objet de plusieurs études (Bennick, 2002). La grande majorité de ces protéines appartient à la super famille des Protéines Riche en Proline (PRPs) et les Protéines Riches en Histidine (HRPs) qui ont une capacité d'interagir avec les tannins. Ces derniers ont aussi une affinité à d'autres protéines salivaires, comme les statherines, les cystatines, les mucines et les  $\alpha$ -amylases (Kaneda *et al.*, 2003 ; Simon et Brathieu, 2003 ; Shellis *et al.*, 2005).

#### II. 2. 2. 1. Les Protéines Riches en Proline (PRPs)

Les Protéines Riches en Proline (PRPs) représentent environ 70 à 80 % des protéines salivaires (Charlton *et al.*, 1996 ; de Freitas et Mateus., 2001a). Plus d'une vingtaine de PRPs ont été identifiées dans la salive humaine. Elles sont classées en trois groupes selon leur nature chimique et leurs charges caractéristiques qui leurs confèrent des propriétés basiques (BPRPs) ou acides (APRPs) et en fonction de leur aptitude à fixer covalamment un groupement carbohydrate, on les appelle dans ce cas les glycosylées (GPRPs) (Charlton *et al.*, 1996 ; Lu et Bennick, 1998). Les PRPs, ont un rôle lubrifiant et sont connues pour interagir avec les polyphénols issus de l'alimentation, formant ainsi des complexes insolubles, notamment avec les tannins condensés. Cette interaction réduirait ainsi le potentiel lubrifiant de la salive ce qui est perçu comme une astringence (Vidal *et al.*, 2004).

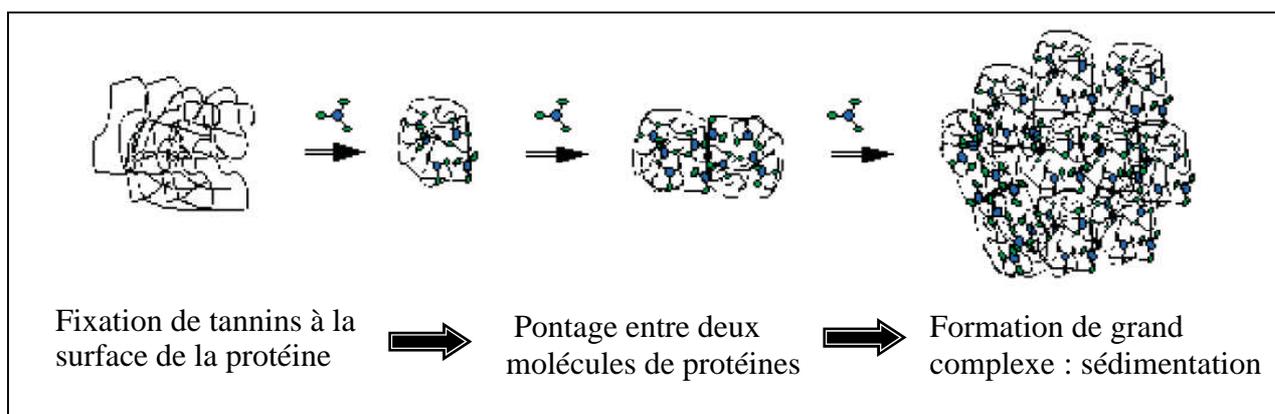
### II. 2. 2. Les Protéines Riches en Histidines (HRPs)

L'histatine ou les Protéines Riches en Histidines (HRPs), comprend une petite famille de protéines salivaires (Troxler *et al.*, 1990 ; Wroblewski *et al.*, 2001). Douze HRP ont été isolées et classées de HRP 1 jusqu'à HRP 12. L'HRP 1, HRP 3 et HRP 5 représentent 85 à 90 % des HRP totales. Contrairement aux PRPs les HRP ne contiennent pas de proline à l'exception des HRP 1 et HRP 2 (Bennick, 2002).

D'autres molécules sont aussi sélectionnées pour étudier les mécanismes interactionnels entre polyphénols et protéines, telles que la gélatine, le collagène, la Bradykinine, les enzymes digestives, les bactéries, l'ADN, etc. (Frazier *et al.*, 2003 ; Madhan *et al.*, 2005 ; Richard *et al.*, 2005)

### II. 3. Principe de complexation entre les tannins et les protéines

Un modèle de complexation des tannins avec les protéines a été proposé par Jöbstl *et al.* (2004). Ce processus s'effectue en trois étapes (figure 11). En premier lieu, l'interaction est telle qu'un ou plusieurs tannins fixent la protéine formant une mono couche, diminuant ainsi son caractère hydrophile (Papadopoulou *et al.*, 2005). Ensuite, l'augmentation de la concentration en protéines permet aux polyphénols de jouer le rôle d'agents pontants entre les différentes molécules, grâce à leur propriété multidentée. La couche superficielle hydrophobe se reforme, ce qui entraîne la précipitation des protéines. Cette précipitation peut être réversible par un ajout de protéines ; chacune n'étant apte à fixer qu'un nombre fixe de polyphénols ou bien par ajout de polysaccharides avec lesquels les tannins se complexent, ce qui provoque une diminution de la liaison avec les protéines par effet compétitif (Simon, 2003).



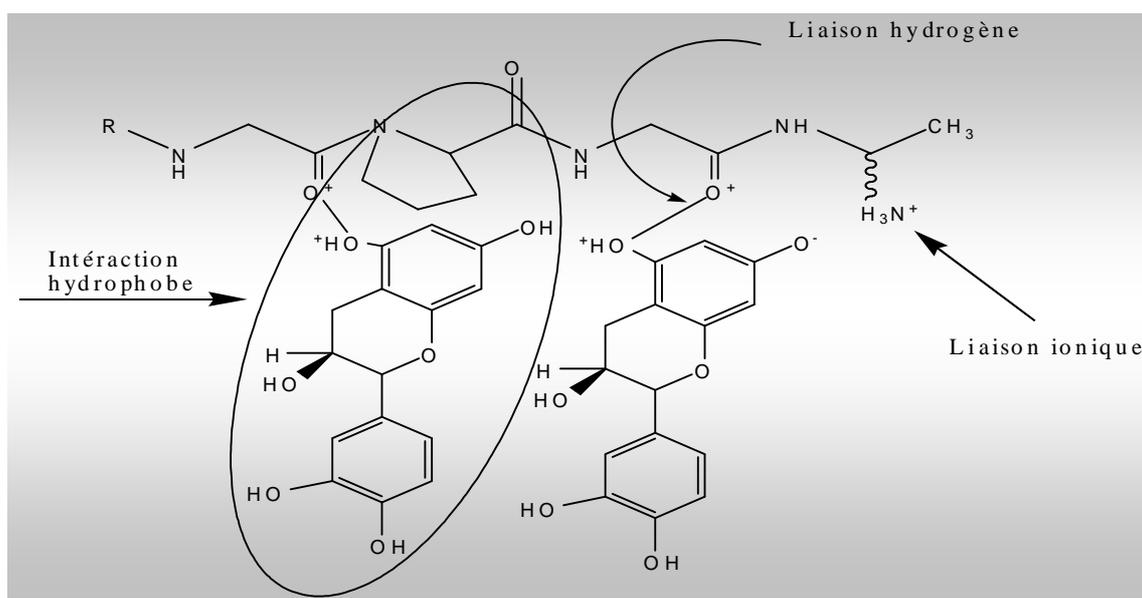
**Figure 11** : Principe de complexation entre les polyphénols et les protéines (Jöbstl *et al.*, 2004).

## II. 4. Nature et non-spécificité des sites de liaison

Etant donné qu'il n'existe pas de séquences spécifiques d'interaction sur la protéine mais un site privilégié en fonction d'une succession d'acides aminés entraînant une conformation propice à l'interaction (Feldman *et al.*, 1999 ; Naczki *et al.*, 2006 ; Siebert, 2006). Le seul fait d'avoir des séquences riches en résidus proline, glycine et glutamine suffirait à provoquer la complexation avec les tannins (Simon, 2003). La particularité des sites tient majoritairement à la présence de résidus prolines qui représentent un bon site de fixation (Frazier *et al.*, 2003 ; Simon, 2003 ; Richard *et al.*, 2006).

## II. 5. Différents types de liaison

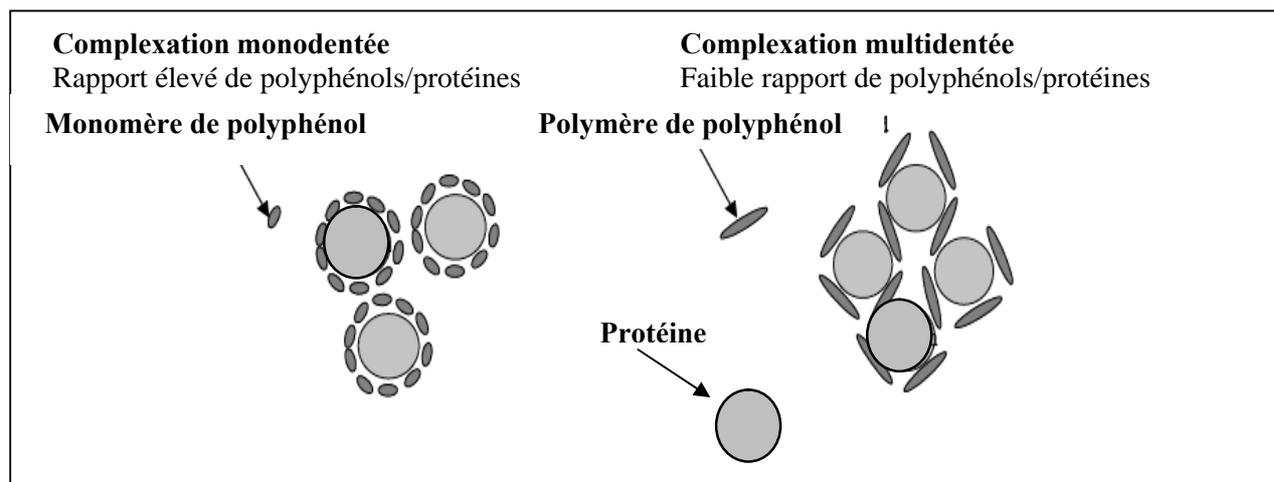
Selon Yan et Bennick (1995), l'interaction provient de la formation de liaison hydrogène entre les groupements hydroxyles des composés phénoliques et le carbonyle des protéines. D'autre part, Charlton et ses collaborateurs (1996) suggèrent que les tannins et les protéines interagissent majoritairement via des interactions hydrophobes, entre le groupement latéral (pyrrolidine) de la proline et les cycles aromatiques des polyphénols. Dans ce cas, les liaisons hydrogène apparaissant comme secondaires, qui serviraient à stabiliser le complexe. D'une manière générale, les tannins s'adsorbent à la surface des protéines en formant ainsi une monocouche hydrophobe, principalement, par trois types de liaison (figure 12) ; les interactions hydrophobes, les liaisons hydrogène et enfin les interactions de type ionique (Vergé *et al.*, 2002b ; Simon, 2003).



**Figure 12** : Différents types de liaison des polyphénols avec les tannins (Simon, 2003)

Plusieurs autres modèles interactionnels entre polyphénols et protéines ont été développés, citons par exemple :

- **Les mécanismes monodentés et multidentés :** Selon le degré de polymérisation des polyphénols et le rapport polyphénols/protéines, Prigent (2005) a mis en évidence deux types d'interactions entre polyphénols et protéines : monodentés et multidentés (figure 13). Des polyphénols simples interagissent avec un seul site sur la protéine selon le mécanisme monodenté. A un rapport élevé de polyphénols/protéine, les polyphénols enveloppent la protéine formant ainsi une monocouche moins hydrophile, qui mène à une agrégation. Avec des polyphénols plus polymérisés, celles-ci forment des liaisons croisées entre deux molécules de protéines simultanément, via un mécanisme multidenté. ces deux mécanismes induisent l'agrégation et la précipitation du complexe (Charlton *et al.*, 2002 ; Prigent, 2005).



**Figure 13 :** Mécanismes monodenté et multidenté proposés par Prigent (2005)

## II. 6. Paramètres influençant les interactions entre polyphénols et protéines

Les critères définissant l'affinité ou la taille du complexe tannin-protéine peuvent être regroupés en deux classes ; ceux qui sont intrinsèques à la nature de la protéine et du polyphénol, mais aussi les conditions dans lesquelles ont lieu ces complexations (Simon, 2003).

## **II. 6. 1. Paramètres intrinsèques**

### **II. 6. 1. 1. Paramètres liés aux molécules de protéines**

Les interactions entre les polyphénols et les protéines dépendent de la taille, de la composition, de la conformation et de la charge des molécules de protéines (Bennick, 2002). Une protéine trop longue pourrait avoir tendance à se replier, masquant ainsi des sites de fixation, ce qui limitera la reconnaissance des sites d'interaction entre tannin et protéine (Hagerman et Butler, 1981 ; Simon, 2003). En outre, plus la protéine est longue plus le nombre de sites potentiels est important, car l'augmentation du nombre de prolines suffit à augmenter le nombre de sites de liaison (Naczki *et al.*, 2006 ; Siebert, 2006). En général les protéines qui sont facilement précipitées par les tannins ont des poids moléculaire élevés et contiennent une grande quantité de prolines (Bennick, 2002). Des études menées par Charlton *et al.* (2002), de Freitas *et al.* (2003) et Frazier *et al.* (2003) ont montré que les polyphénols ont une affinité plus importante pour les PRPs (40 % de résidus de proline) que pour la gélatine (18 à 24 % de résidus de prolines plus un hydroxyproline) et la BSA (< 5% de résidus de proline).

### **II. 6. 1. 2. Paramètres liés aux molécules de polyphénols**

#### **II. 6. 1. 2. 1. Structure et poids moléculaire des polyphénols**

L'augmentation de la taille du polyphénol (soit le degré de polymérisation pour les tannins condensés) favorise la complexation avec les protéines (de Freitas et Mateus, 2001a ; Simon, 2003 ; Naczki *et al.*, 2006). Une étude menée par Bennick (2002) a démontré que le degré de polymérisation des tannins, augmente leur capacité de précipiter la gélatine et les protéines salivaires. Dans le cas des tannins hydrolysables, l'étendue de la galloylation augmente l'interaction avec la BSA (Poncet-Legrand *et al.*, 2006).

#### **II. 6. 1. 2. 2. Groupements hydroxyle**

Il a été démontré que les polyphénols liés aux protéines dépendent très fortement du nombre et de la position des groupements hydroxyle sur le cycle aromatique (Gutzeit *et al.*, 2004). Les monophénols s'attachent difficilement à la protéine, suivi par les métadiphénols, les orthodiphénols et les triphénols qui se lient assez fortement aux protéines (Siebert, 2006).

### **II. 6. 1. 3. Effet du rapport molaire polyphénols/protéines**

Une étude menée par Siebert (2006) réalisée dans des systèmes modèles, a démontré que la quantité et la taille des complexes polyphénols-protéines dépendent des concentrations de protéines, de polyphénols, et du rapport entre les deux.

### **II. 6. 2. Paramètres extrinsèques**

#### **II. 6. 2. 1. Effet du pH**

La valeur du pH est très importante pour l'interaction entre polyphénols et protéines (Simon, 2003). En général, il a été constaté que la précipitation des complexes tannins-protéines est pH-dépendante, avec une plus grande précipitation au pH proche du pH isoélectrique ( $pH_i$ ) des protéines, cela est attribuée à la diminution des répulsions électrostatiques des molécules de protéines (Hagerman et Butler, 1978 ; Bennik, 2002). L'effet du pH est dépendant aussi de la concentration en composés ioniques. A faible pH et faible concentration en protéines, une augmentation de la force ionique augmente la complexation (Hagerman et Butler, 1978 ; Hagerman et Butler, 1981 ; Simon, 2003).

#### **II. 6. 2. 2. Effet de la température**

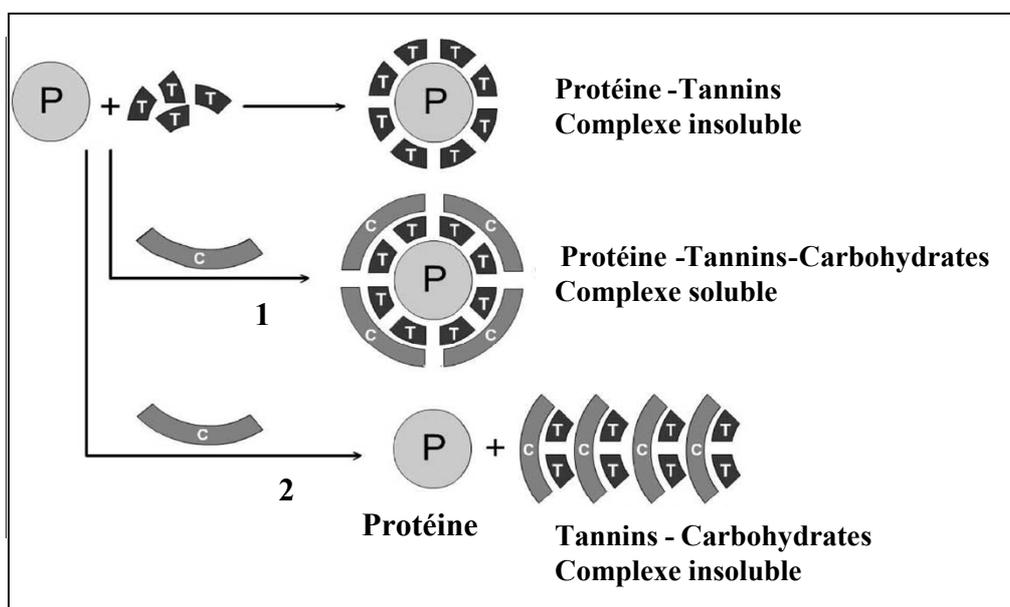
Les travaux menés par Hagerman et Butler (1978) ont observé qu'il n'y a aucune différence significative dans la quantité de précipités formés aux températures 4 et 20°C. D'autre part, Siebert (2006) a suggéré également, que ces complexes peuvent être plus stables à des faibles températures ; une méthode très ancienne était utilisée pour stabiliser les boissons alcooliques, c'est de stocker ces produits à des faibles températures. Ce qui conduit à une formation de brume (précipité), le produit est ensuite filtré après la décantation du complexe.

#### **II. 6. 2. 3. Effet de la force ionique**

L'interaction des protéines avec les polyphénols est dépendante aussi de la force ionique du milieu (Simon, 2003 ; Mateus *et al.*, 2004). Des études menées par Bennik (2002), montrent que les interactions hydrophobes entre les tannins condensés et la gélatine augmentent avec l'augmentation de la température et de la force ionique.

### II. 3. 2. 4. Effet des carbohydrates

Les polysaccharides peuvent aussi interférer, en agissant de manière compétitive avec les protéines sur la fixation des polyphénols (Simon, 2003). Il a été observé que le taux des agrégats insolubles diminue avec l'addition des carbohydrates, sauf pour le dextrane. Car ce dernier n'est pas suffisamment soluble, et l'effet stérique peut limiter le nombre de sites de liaison disponibles pour faciliter l'accès aux polyphénols (de Freitas *et al.*, 2003 ; Mateus *et al.*, 2004 ; Madhan *et al.*, 2005). Une étude menée par Lu et Bennik (1998) a montré que l'augmentation de la capacité des tannins à se lier aux PRPs a lieu quand les PRPs glycosylées deviennent déglycosylées. Mateus *et al.* (2004) ont présenté un modèle pour expliquer ces comportements (figure 14); les carbohydrates s'adsorbent à la surface des tannins et le complexe proteines-tannins-carbohydrates devient soluble par le caractère hydrophile des carbohydrates. A côté de la formation des complexes ternaires solubles, les carbohydrates, ont la capacité de développer la structure en gel dans la solution, qui est capable d'encapsuler les polyphénols et d'empêcher leur interaction avec les protéines, comme c'est le cas de l'acide polygalacturonique (de Freitas *et al.*, 2003).



**Figure 14 :** Les deux mécanismes possibles impliqués dans l'inhibition de l'agrégation entre tannins et protéines par les carbohydrates (Mateus *et al.*, 2004). (P: protéine, T: tannin, C:carbohydate).

*Etude expérimentale*

*Matériefet méthodes*

## I. Matériel végétal

Cinq plantes ont été collectées dans une région rurale de la wilaya de Bejaia (Beni-Djellil), durant le mois de Mars 2006. L'échantillonnage a été réalisé de manière aléatoire dans une région propre et loin de la pollution. Le choix de ces plantes fut basé sur leurs utilisations comme remèdes traditionnels par la population de la région. Après la récolte, les plantes ont été identifiées avec l'aimable contribution de M<sup>elle</sup> OURARI M. (membre du laboratoire d'écologie et environnement, université de Bejaia).

**Tableau VIII** : Tableau récapitulatif des différents échantillons

Photo	Famille	Nom commun	Nom scientifique	Nom local	Utilisation traditionnelle	Partie utilisée
	Composées (Astéracées)	Absinthe	<i>Artemisia absinthium</i>	Chadjrat meriem	Emménagogue, Vermifuge...	Feuilles
	Composées (Astéracées)	Inule visqueuse	<i>Inula viscosa</i>	Amagramane	Anti-inflammatoire, expectorant, diurétique...	Feuilles
	Lamiacées (Labiées)	Marrube blanc	<i>Marrubium vulgare</i>	Mériouet	Expectorant, antiseptique, fébrifuge...	Feuilles
	Lamiacées (Labiées)	Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Amezir	Anti-inflammatoire, expectorant, ...	Feuilles
	Lamiacées (Labiées)	Sauge	<i>Salvia officinalis</i>	Tazourt	Anti-inflammatoire, expectorant,...	Feuilles

## **II. Méthodes**

### **II. 1. Préparation des échantillons**

Dans le but d'extraire les principes actifs (composés phénoliques) des différentes plantes, celles-ci ont subi plusieurs traitements qui consistent en :

#### **II. 1. 1. Test d'humidité et séchage**

Les plantes citées précédemment ont été lavées, nettoyées des poussières et autres impuretés. Les feuilles de chaque plante ont été séchées à l'étuve à 40 °C pendant une période, variable d'une espèce à l'autre selon les résultats de la mesure du taux d'humidité.

Le test d'humidité a été réalisé avec des échantillons représentatifs de 1g (10 fois), 10 g et 100 g sont portés à 103 °C, pendant 4 heures selon la Norme Française (NF V04 - 407).

La teneur moyenne en eau des échantillons étudiés est calculée comme suit :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M_1}$$

**M<sub>1</sub>** : Masse de l'échantillon avant le séchage.

**M<sub>2</sub>** : Masse de l'échantillon après le séchage.

Ce test a une importance majeure pour l'extraction des polyphénols ou tout autre principe actif, car la présence d'eau dans l'échantillon, est un facteur limitant de l'efficacité de l'extraction. En effet, c'est un facteur de dégradation des polyphénols (phénomènes d'oxydations) (Thorsen et Hildebrandt, 2003).

#### **II. 1. 2. Granulométrie**

Après le séchage, les échantillons secs obtenus sont réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisés à différentes granulométries (de 1 mm à 50µm). Seules les fractions dont le diamètre est inférieur à 50µm ont été utilisées pour l'extraction.

Les poudres sont ensuite conservées, dans des récipients en verre, fermés et stockés à l'abri de la lumière pour des utilisations ultérieures.

### II. 1. 3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction solide-liquide est la méthode utilisée pour extraire les composés phénoliques du matériel végétal. Cette méthode est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire ou de séparer par dissolution dans un liquide un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangé à un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide et une phase liquide. Ce transfert n'est pas instantané, et exige un certain temps pour être complet (Velickovic *et al.*, 2006). Selon Thorsen et Hildebrandt (2003), le solvant d'extraction doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, un point d'ébullition peu élevé (pour faciliter son élimination du produit), une faible viscosité, une bonne stabilité à l'oxygène et à la lumière, etc.

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée avec du méthanol pur selon le protocole décrit par Owen et Johns (1999). Le procédé d'extraction est réalisé comme suit :

- Dans une fiole de 500 mL, 200 mg de la fraction fine (50 $\mu$ m), a été ajustée à 500 mL avec du méthanol pur.
- Le mélange est soumis à une agitation magnétique, durant une semaine à température ambiante et à l'abri de la lumière, afin d'éviter les phénomènes d'oxydation.
- La solution a été filtrée, le filtrat obtenu est séché à 40°C sous vide contrôlé (337 mbar) à l'aide d'un rotavapor.
- La pesée de l'extrait a été prise après évaporation totale à 40°C à l'étuve et stabilisation du poids sec de l'extrait.

L'extrait sec obtenu est ensuite redissout dans du méthanol, et conservé à 4°C pour les utilisations ultérieures.

Le rendement d'extraction est calculé comme suit:

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{(m_1 - m_0) \times 100}{E}$$

Avec :

- $m_0$  : Masse du b cher vide (g).
- $m_1$  : Masse du b cher après évaporation (g).
- $E$  : Masse de la prise d'essai (0,2 g).

## **II. 2. Dosage des polyphénols**

Plusieurs méthodes spectrophotométriques ont été développées pour quantifier les composés phénoliques dans les plantes. Elles sont basées sur différents principes pour déterminer divers groupes de polyphénols (Naczki et Shahidi, 2004). La mise en évidence de ces composés est réalisée généralement par des réactions colorées. Les principaux réactifs utilisés sont le phosphomolybdate-phosphotungstate, le carbonate de sodium, le chlorure ferrique, le chlorure d'aluminium, etc. (Bruneton, 1993).

### **II. 2. 1. Dosage des polyphénols totaux et polaires**

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénoliques (Ribereau-Gayon *et al.*, 1982).

#### **➤ Procédure de dosage des polyphénols totaux**

La teneur en composés phénoliques totaux des échantillons est déterminée selon la méthode décrite par Owen et Johns (1999). Le protocole expérimental est illustré dans la figure 15. La concentration en composés phénoliques totaux des extraits de plantes, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique (annexe 2).

#### **➤ Procédure de dosage des polyphénols polaires**

La teneur en composés phénoliques polaires est déterminée, en utilisant la procédure de Owen et Johns (1999) modifiée (figure 16). La modification de cette méthode réside dans la centrifugation à 3000 g pendant 15 minutes avant la lecture (Achat, 2005 ; Benazzouz, 2005 ; Boulekbeche, 2005 ; Brahmi, 2005 ; Guendouze, 2005 ; Moussi, 2005 ; Zellig, 2005).

La concentration en composés phénoliques polaires des extraits de plantes, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique (annexe 2)

➤ **Détermination des polyphénols apolaires**

La concentration des polyphénols apolaires est déterminée par la différence du taux de polyphénols polaires du taux de polyphénols totaux, qui est obtenue comme suit :

$$\mathbf{T_{ap} = T_t - T_p}$$

Où :

**T<sub>ap</sub>** : Taux de polyphénols apolaires

**T<sub>t</sub>** : Taux de polyphénols totaux

**T<sub>p</sub>** : Taux de polyphénols polaires

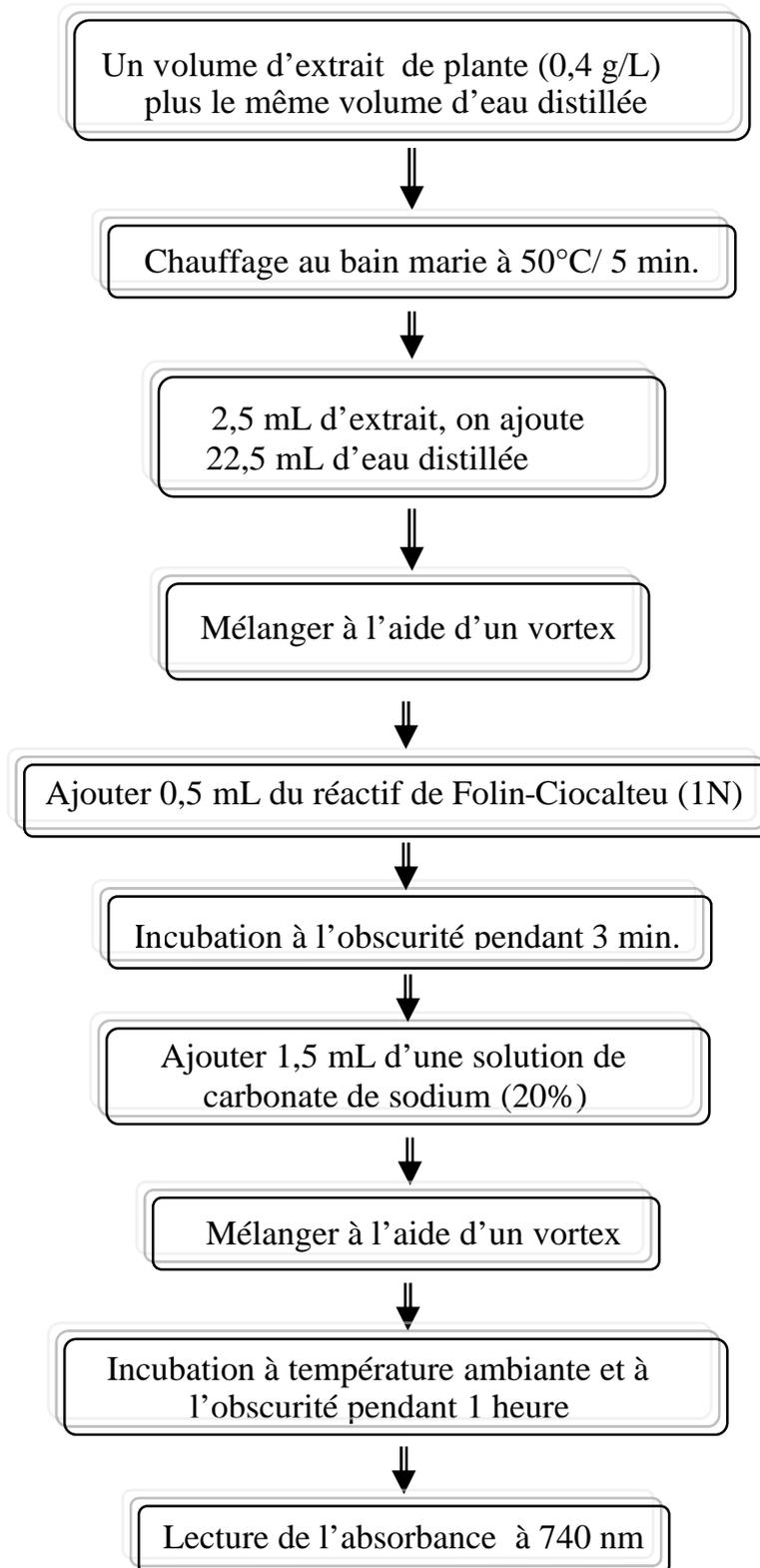


Figure 15 : Protocole de dosage des polyphénols totaux

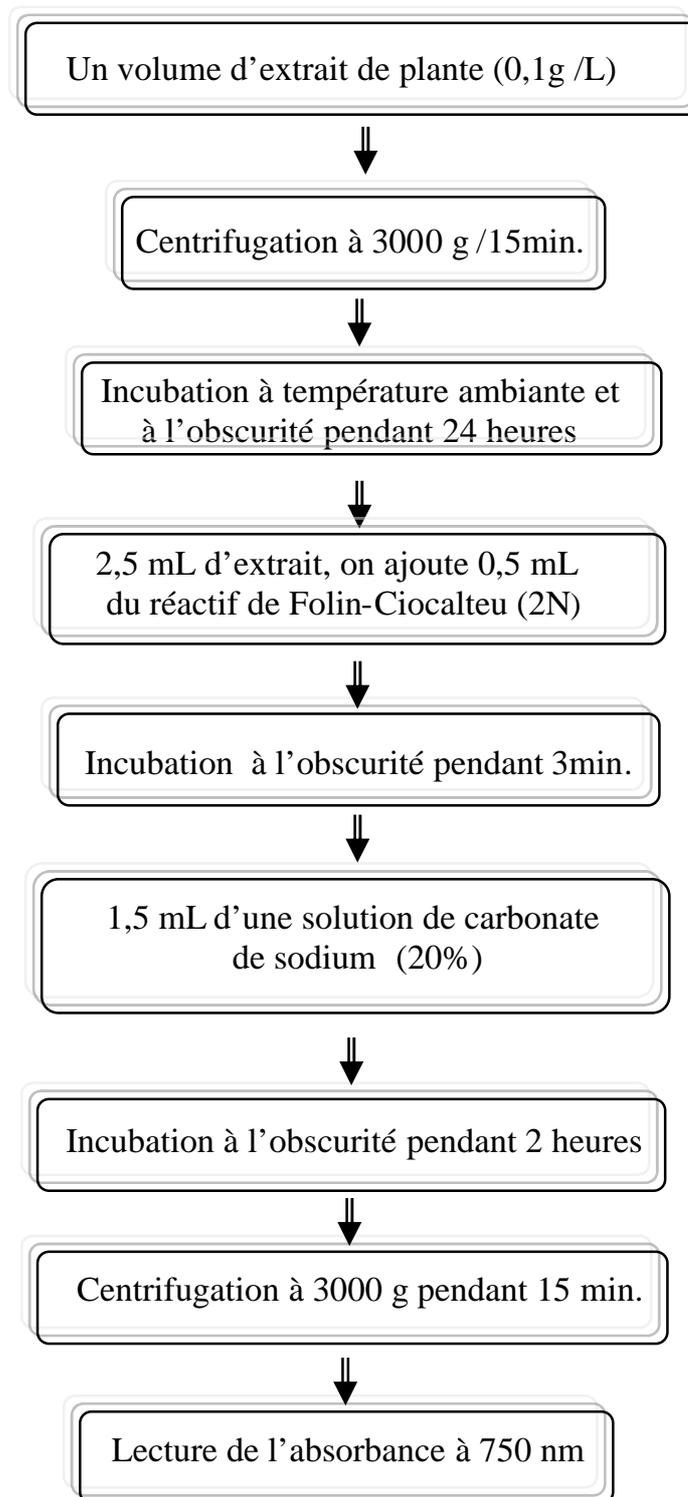
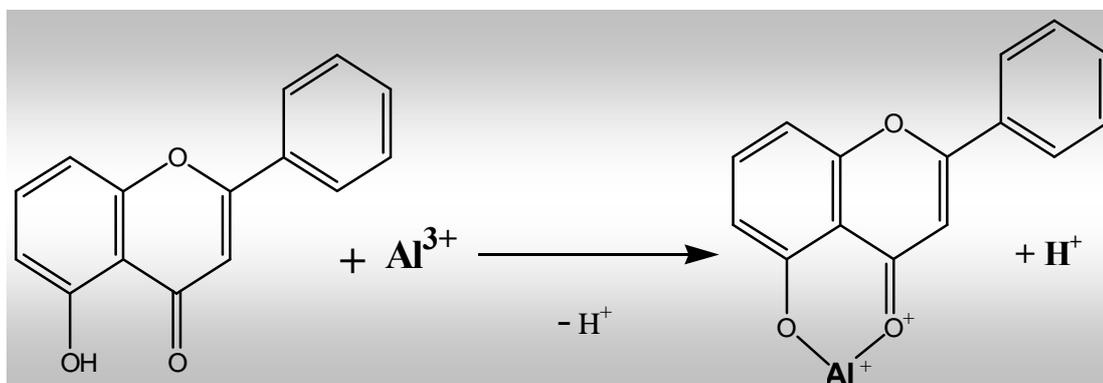


Figure 16 : Protocole de dosage des polyphénols polaires

## II. 2. 2. Dosage des flavonoïdes

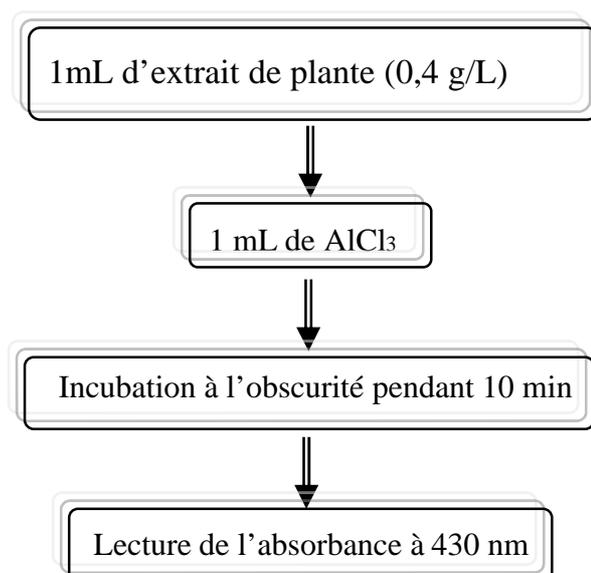
Le chlorure d'Aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes comme le montre la figure 17 (Ribereau-Gayon, 1968).



**Figure 17 :** Mécanisme de réaction de chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes

### > Mode opératoire

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits des feuilles est réalisée par la méthode colorimétrique de Bahorun et ses collaborateurs (1996) (figure 18). La quantité de flavonoïdes contenue dans les extraits de plantes est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétin (annexe 2).



**Figure 18 :** Protocole de dosage des flavonoïdes

### **II. 2. 3. Dosage des tannins**

Les tannins sont connus par leur propriété principale qui est la précipitation des protéines en fonction des facteurs liés au milieu réactionnel (pH, température, force ionique et temps). L'utilisation de la BSA dans le dosage des tannins en milieu acide a pour but de séparer ces derniers des autres polyphénols présents dans l'extrait de plantes (Hagerman et Butler, 1989). Le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) réagit avec les tannins (en milieu alcalin ; SDS/TEA) pour former des chélates de couleur violette (Paris et Hurabeille, 1981 ; Hagerman *et al.*, 1992).

#### **> Mode opératoire**

L'estimation de la quantité des tannins contenue dans les extraits de plantes est réalisée par la méthode de Hagerman et Butler (1978), selon le protocole présenté dans la figure 19. La quantité de tannins est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide tannique (annexe 2).

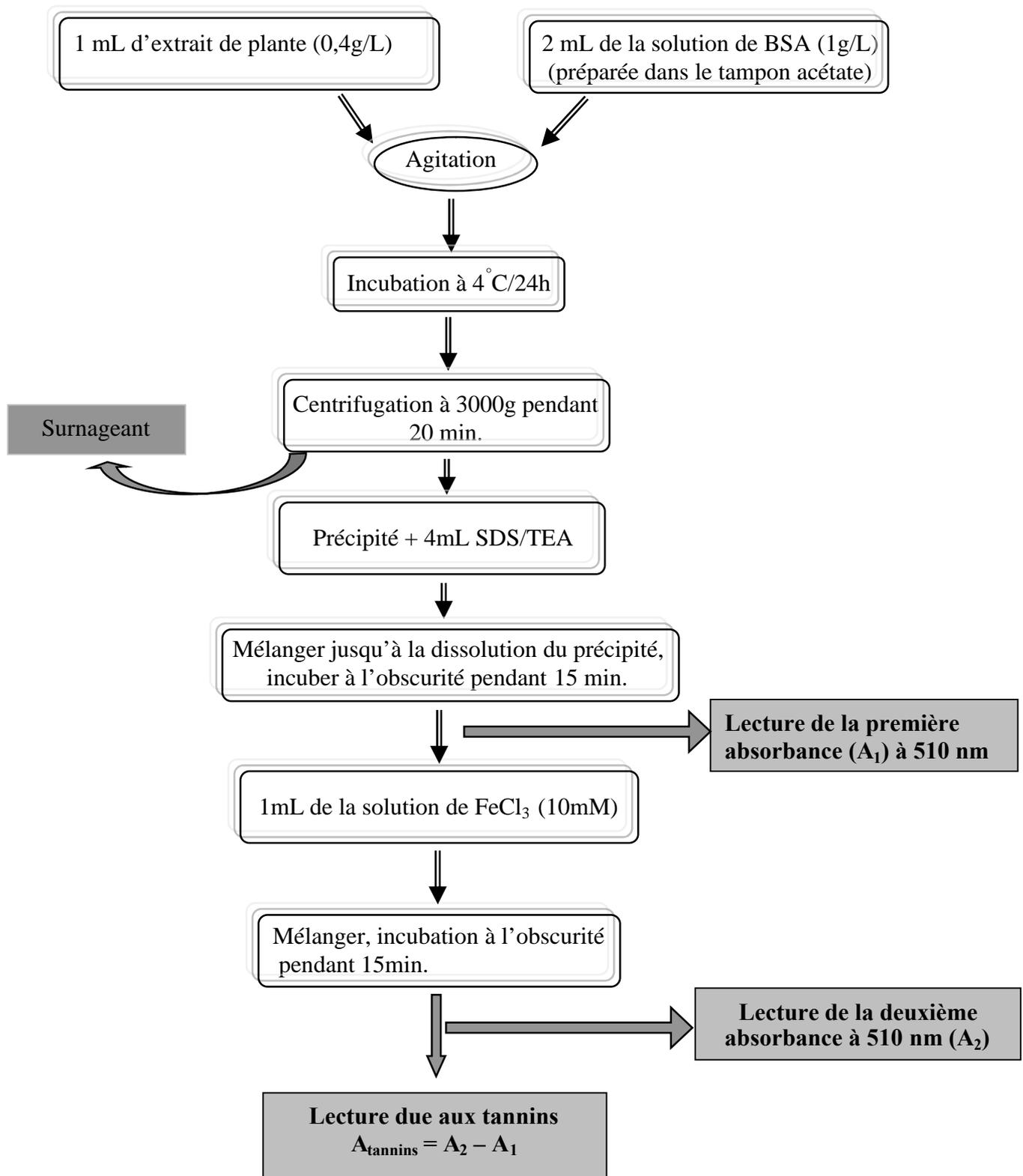
#### **❖ Remarque**

La lecture de l'absorbance pour le dosage des différentes catégories de composés phénoliques, a été réalisée contre un témoin préparé dans les mêmes conditions, dont la longueur d'onde est fixée après avoir réalisé un balayage dans la gamme de longueur d'onde allant de 400 à 800 nm.

### **II. 3. Etude spectrale**

Dans le but d'avoir une idée générale sur les différents composés présents dans les extraits méthanoliques des plantes étudiées, une étude spectrale a été réalisée.

Des échantillons de concentration (0, 1g/L) de chaque plante, ont été préparés dans le méthanol, afin de subir un balayage spectral allant de 190 à 800 nm, après avoir réglé la ligne de base avec le méthanol.

**Figure 19** : Protocole de dosage des tannins

## **II. 4. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA**

Les polyphénols sont connus pour leur caractéristique interactionnelle avec les protéines. Pour étudier ce phénomène, nous avons opté pour une protéine de référence qui est la BSA (Bovin Serum Albumin). Cette protéine est soluble dans des tampons, a un poids moléculaire d'approximativement 66 kDa, avec 583 acides aminés, et dépourvue de carbohydate (Simon, 2003).

### **II. 4. 1. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration des extraits polyphénoliques**

Les interactions polyphénols-protéines sont visualisables par l'aspect turbide du mélange de la solution protéique et de l'extrait de plante (Simon, 2003 ; Khan et Sultana, 2005). Le suivi analytique de cette turbidité est fait par spectrophotométrie en mesurant la Densité Optique (DO) de la solution à la longueur d'onde maximale de 420 nm, qui a été déterminée après avoir réalisé un balayage spectral allant de 400 à 800 nm.

L'étude de l'effet de la concentration de BSA, de la température, du pH et de la force ionique sur les mécanismes interactionnels entre les polyphénols et les protéines est basée sur le même principe (de Freitas *et al.*, 2003 ; de Freitas et Mateus, 2001a ; Simon, 2003).

#### **> Mode opératoire**

Pour évaluer les interactions entre les extraits polyphénoliques de plantes et la protéine BSA, la méthode utilisée est celle préconisée par Naczki *et al.* (1996) avec quelques modifications (Achat, 2005 ; Benazzouz, 2005 ; Boulekbeche, 2005 ; Brahmi, 2005 ; Guendouze, 2005 ; Moussi, 2005 ; Zelleg, 2005).

#### **▪ Préparation de la solution de BSA**

La solution de BSA a été préparée à partir d'une poudre de cette protéine dans une solution tampon phosphate de pH 6,9 et de molarité 0,64 mM à raison de 1g/L (annexe 3).

▪ **Préparation des extraits de plantes**

A partir de la solution mère (3,5 g/L), plusieurs dilutions ont été préparées dans du méthanol pur avec des concentrations différentes (0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 - 3 et 3,5 g/L).

1 mL de la solution de BSA a été mis en contact avec 1 mL d'extrait de plante. Après incubation à 37 °C pendant 1 heure, la lecture au spectrophotomètre a été réalisée à 420 nm contre un témoin préparé avec du méthanol au lieu de l'extrait de plante.

**II. 4. 2. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration de BSA**

Le protocole expérimental utilisé pour la mesure de la densité optique en fonction de la concentration de BSA, est le même que celui décrit par de Freitas *et al.* (2003), avec quelques modifications.

▪ **Préparation de la solution de BSA**

La solution de BSA a été préparée à partir d'une poudre de cette protéine dans une solution tampon phosphate de pH 6,9 et de molarité 0,64 mM à différentes concentrations (0,2 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 et 3 g/L).

▪ **Préparation des extraits de plantes**

Des échantillons de concentration constante (0,5 g/L) ont été préparés en diluant la solution mère (3,5 g/L) dans le méthanol.

La mise en contact de la solution de BSA avec les extraits de plantes, a été réalisée à raison de 1mL de chaque solution.

La lecture de la densité optique a été effectuée à 420 nm après incubation à température physiologique (37°C) pendant une heure, contre un témoin qui a été préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol.

**II. 4. 3. Mesure de la densité optique en fonction du pH**

La méthode utilisée est celle préconisée par de Freitas et Mateus (2001b) avec quelques modifications, dont la procédure est comme suit:

A une prise d'essai de 1mL de l'extrait de plante (0,5g/L), dans des tubes à essai, on ajoute 1mL de la solution de BSA, préparée dans des tampons de pH différent (3 - 3,5 - 4 - 4,5 - 5 - 5,5 - 6 - 6,5 - 7 et 8) avec une concentration de 1g/L. La lecture de la densité optique a été faite à 420 nm après une heure d'incubation à 37°C, contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol.

#### **II. 4. 4. Mesure de la densité optique en fonction de la température**

Un protocole expérimental a été mis en évidence par Prigent (2005), afin d'étudier l'effet de la variation de la température sur les mécanismes interactionnels entre les polyphénols et la BSA.

Dans des tubes à essai, on met 1 mL d'extrait polyphénolique de chaque échantillon (0,5 g/L), additionné à 1mL de la solution de BSA préparée dans le tampon phosphate (0,64 mM, pH 6,9) à une concentration de 1g/L.

La lecture de la densité optique a été réalisée à 420 nm après une heure d'incubation à différentes températures (5 - 10 - 20 - 35 - 60 et 70°C), contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol.

#### **II. 4. 5. Mesure de la densité optique en fonction de la concentration en NaCl**

L'influence de la concentration de NaCl sur la formation du complexe polyphénols-BSA, est réalisée selon la méthode préconisée par de Freitas *et al.* (2003) avec quelques modifications.

Dans une série de tube à essai, on introduit 1mL de la solution test (extrait polyphénolique de chaque plante) à une concentration de 0,5 g/L, 1 mL de la solution de BSA à une concentration de 1 g/L (préparée dans le tampon phosphate : 0,64 Mm, pH 6,9) et 1ml de la solution de NaCl (préparée dans le tampon phosphate : 0,64 Mm, pH 6,9), à des concentrations variables (0,01 - 0,02 - 0,04 - 0,06 - 0,08 - 0,1 - 0,12 et 0,14 M).

L'évaluation de la densité optique a été réalisée à 420 nm après une heure d'incubation à 37°C, contre un témoin préparé en remplaçant l'extrait de plante par le méthanol.

## **II. 5. Etude statistique**

Pour comparer les différents résultats obtenus dans la présente étude, une analyse descriptive a été réalisée, à l'aide du logiciel Microsoft office Excel 2003, les moyennes étant exprimées sous la forme de moyenne  $\pm$  écart type, suivie par une analyse de la variance (ANOVA) avec le test LSD. Les données ont été organisées en utilisant le logiciel STATISTICA version 5.5.

Les résultats qui portent des lettres alphabétiques différentes, présentent des différences, contrairement à ceux qui portent des lettres identiques.

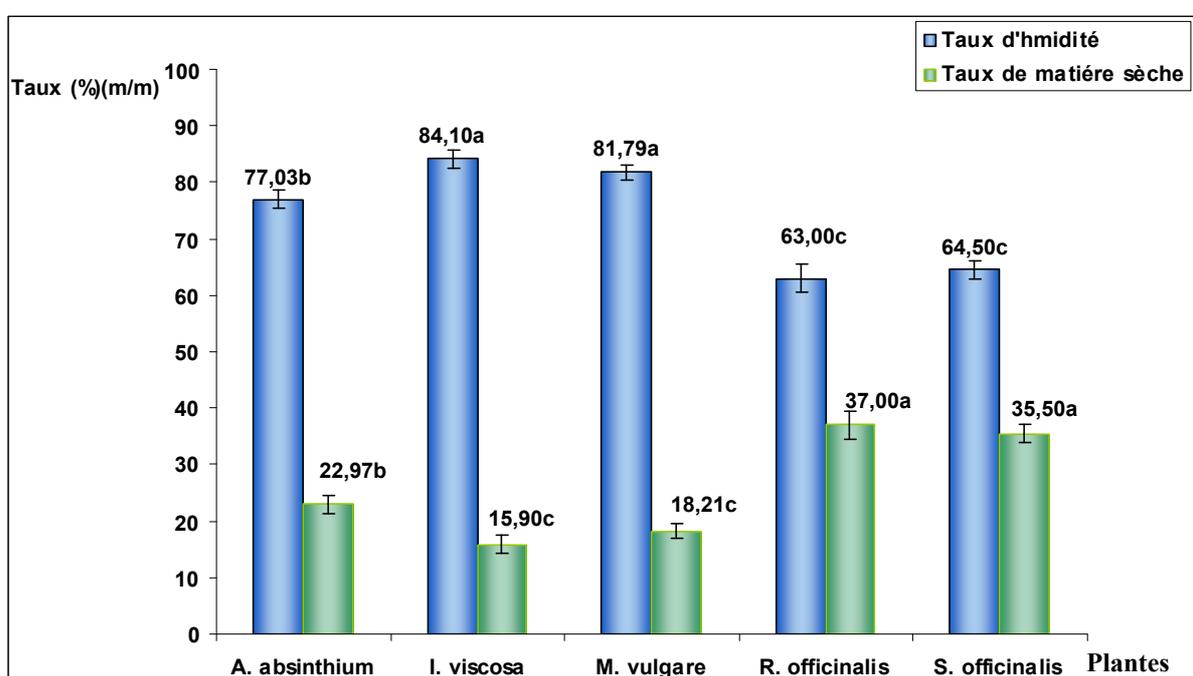
Toutes les données représentent la moyenne de trois essais.

*Résultatset discussion*

## I. Préparation des échantillons

### I. 1. Test d'humidité et séchage

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des plantes étudiées, et de connaître la durée de séchage de chaque plante. Cette durée diffère d'une espèce à l'autre selon la quantité d'eau qu'elle contient. En effet, le temps de séchage est en relation proportionnelle avec la teneur en eau qui varie de 10 à 14 jours (annexe 4). Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'histogrammes (figure 20).



**Figure 20** : Teneur moyenne en eau et en matière sèche des différentes plantes (A : *Artemisia* ; I : *Inula* ; M : *Marrubium* ; R : *Rosmarinus* ; S : *Salvia*).

D'après les résultats obtenus, les taux élevés d'humidité sont représentés par les deux espèces : *Inula viscosa* (84,10 %) et *Marrubium vulgare* (81,79 %), suivi par *Artemisia absinthium* (77,03%), et d'autres taux relativement plus faibles sont représentés par *Salvia officinalis* (64,50%) et *Rosmarinus officinalis* (63,00%), ce qui leur confère une richesse en matière sèche par rapport aux autres plantes. La différence des taux d'humidité et de matière sèche entre ces plantes est très hautement significative ( $p < 0,001$ ).

La comparaison de ces résultats avec les données de la littérature, montre que les teneurs en eau de *R. officinalis* et de *S. officinalis* sont voisines de celles trouvées par Munné-Bosch et Alegre (2003) qui sont de 66 et 58,9 % respectivement. De même, Achat (2005) a obtenue presque le même taux pour *S. officinalis* qui est de 63,2%. Toutefois, le taux d'humidité est très influencé par certains facteurs, liés à la plante et/ou aux conditions environnantes (Hopkins, 2003). En effet, des études menées par Sanchez-Blanco *et al.* (2004) ont déterminé une quantité d'eau relative pour le romarin de 80 % (dans le cas où cette plante est irriguée), dans le cas contraire elle est de 65 %. De même Thorsen et Hildebrandt (2003) ont déterminé une quantité d'eau qui est de 40 %.

## **I. 2. Rendement en extrait sec**

De la grande diversité structurale des polyphénols découle une grande variabilité des propriétés physico-chimiques, rendant impossible une présentation unique et générale d'une méthode qui permet leur extraction et leur isolement (Ribereau-Gayon, 1968). Le choix du solvant pour l'extraction des composés phénoliques, à partir du matériel végétal, dépend de la nature et du type de ces composés. Généralement les solvants organiques sont les plus utilisés pour l'extraction des différents constituants des plantes (Velickovic *et al.*, 2006).

Dans la présente étude le méthanol absolu est le solvant utilisé, car il possède l'avantage d'être plus facilement éliminé, dans le cas où l'on veut concentrer l'extrait sous vide (Ribereau-Gayon, 1968). D'après Lapornik *et al.* (2005), l'extraction avec le méthanol donne un rendement en polyphénols plus élevé (7 fois plus) que celle réalisée avec de l'eau, de plus le méthanol est le meilleur solvant qui extrait plusieurs classes de composés phénoliques (Cowan, 1999). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 21.

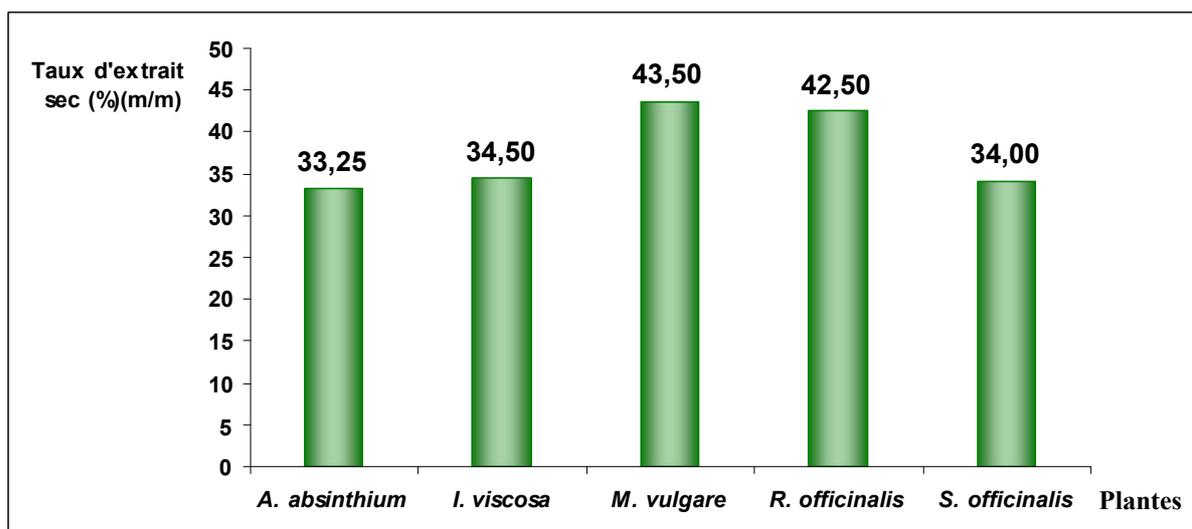


Figure 21 : Taux d'extrait sec des différentes plantes

Le meilleur rendement est observé chez *Marrubium vulgare* (43,50 % ; m/m) suivi par *Rosmarinus officinalis* (42,50 %, m/m). De plus faibles rendements ont été obtenus pour les trois autres espèces : *Artemisia absinthium* (33,25 %), *Salvia officinalis* (34,0 %) et *Inula viscosa* (34,5 % ; m/m).

Al-Bakri et Afifi (2007) ont obtenu un rendement de 20 % pour l'espèce *Marrubium vulgare*, qui est inférieur à celui obtenu, alors que Pavela (2004) a obtenu un taux de 27,32 % (m/m) de l'extrait méthanolique de cette espèce. Ces variations sont probablement dues à la différence du solvant utilisé, et le rapport masse de la prise d'essai/volume d'alcool.

La comparaison des résultats trouvés avec les données de la littérature, montre que le rendement de *R. officinalis* (42,5 %, m/m) diffère de celui rapporté par d'autres auteurs. En effet, Oluwatuyi *et al.* (2004) ont obtenu un taux de 14,6 % (m/m) à partir de la macération de 500g de matière sèche dans le chloroforme. De même Mahmoud *et al.* (2005) ont obtenu un rendement de 8 % (m/m), extrait avec un mélange de dichlorométhane/méthanol.

Néanmoins, pour *Inula viscosa*, un rendement de 34,5 % (m/m) est obtenu, ce qui est conforme à celui trouvé par Konishi *et al.* (2002), pour l'extraction dans le méthanol (37,01 % ; m/m).

D'autres études menées par Pavela (2004) ont donné un rendement de 19,28 % (m/m) pour l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis*. De même, Achat (2005) a trouvé un rendement de 25 % pour l'extraction au méthanol. Par contre Menaker *et al.* (2004) ont déterminé un rendement très faible (1,32 % ; m/m) d'un extrait éthanolique de la même plante.

Les résultats obtenus dans la présente étude, diffèrent de ceux obtenus par ces auteurs, ces différences pourraient être expliquées par plusieurs facteurs, à savoir l'origine géographique de la plante, la maturité des feuilles, le type de solvant utilisé pour l'extraction, et le rapport entre la masse de poudre et le volume du solvant, ainsi que la technique d'extraction utilisée (Louli *et al.*, 2004 ; Naczek et Shahidi, 2004).

## **II. Polyphénols**

### **II. 1. Polyphénols totaux, polaires et apolaires**

L'extraction des composés phénoliques polaires et apolaires est largement dépendante de la polarité des solvants, qui est due à la différence de polarité des principes actifs (Durling *et al.*, 2006). Pour cela plusieurs combinaisons (alcool/eau) ont été réalisées, mais il n'y a pas de données publiées sur la composition du solvant type, qui extrait tous les composés polaires et apolaires simultanément (Baskan *et al.*, 2007).

Après addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est obtenue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration de l'acide gallique (utilisé comme étalon), ou de l'extrait de plante. Les résultats du calcul de la concentration et l'écart type correspondant sont exprimés en mg Equivalent Acide Gallique par g de Matière Sèche (mg EAG/g MS) (annexe 5).

Les teneurs en composés phénoliques totaux, polaires et apolaires dans les extraits de plantes sont illustrées dans la figure 22.

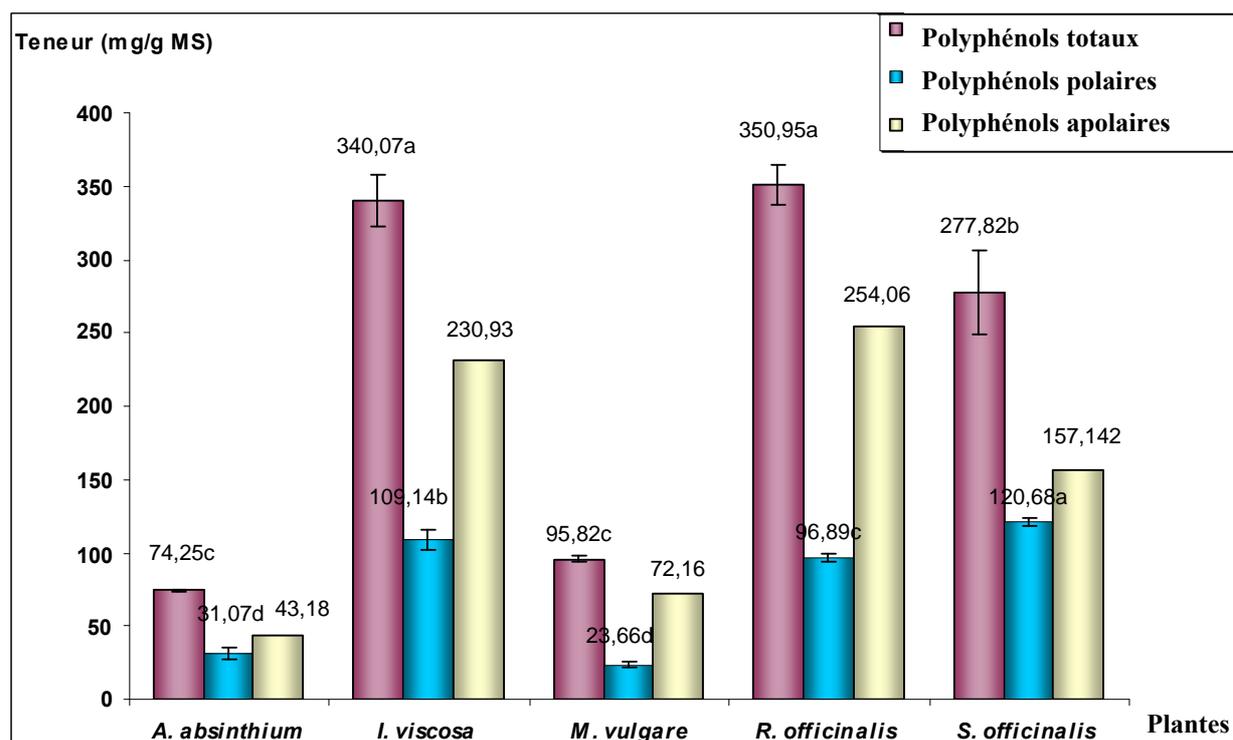


Figure 22 : Composés phénoliques totaux, polaires et apolaires des extraits de plantes

Les teneurs les plus importantes de polyphénols totaux sont retrouvées chez *R. officinalis* (350,95 mg/g MS) et *I. viscosa* (340,07 mg/g MS). Des teneurs plus faibles sont obtenues chez *M. vulgare* (95,82 mg/g MS) et *A. absinthium* (74,25 mg/g MS). Concernant les polyphénols polaires, une teneur élevée a été révélée chez *S. officinalis* (120,68 mg/g MS), et des teneurs plus faibles chez *A. absinthium* (31,07 mg/g MS) et *M. vulgare* (23,66 mg/g MS). D'après la figure 22, nous constatons également, que toutes les espèces ont des teneurs élevées de polyphénols apolaires par rapport aux polyphénols polaires. La différence dans les teneurs en ces composés, des différents extraits, est très hautement significative ( $p < 0.001$ ).

Très peu d'études sur l'analyse quantitative des composés phénoliques ont été réalisées sur les espèces *I. viscosa*, *M. vulgare* et *A. absinthium*. Cependant, de nombreux articles sur les deux espèces *S. officinalis* et *R. officinalis* sont basés sur les analyses quantitatives et qualitatives.

Selon les travaux menés par Berrougui *et al.* (2006), les feuilles de *M. vulgare* sont riches en composés phénoliques principalement ; verbascoside, forsythoside, arenarioside et ballotetroside. Cette grande teneur en ces composés confère à la plante des propriétés

antioxydantes et anticarcinogènes. Dans le même sens Vander-Jagt *et al.* (2002) ont défini un fort pouvoir antioxydant des extraits aqueux pour *M. vulgare*, *R. officinalis*, et *S. officinalis* qui est lié à leur richesse en différentes classes de composés phénoliques.

Celiktas *et al.* (2006b) dans leurs études sur le romarin ont déterminé une quantité de polyphénols totaux qui varie entre 82,3 et 119 mg EAG/g de MS. Ces résultats diffèrent de ceux trouvés dans la présente étude. Ceci est probablement dû à la différence géographique et à la période de récolte. En effet, ces mêmes auteurs ont déterminé une teneur élevée de carnosol entre les mois de juin et septembre suivi par une diminution jusqu'au mois de février puis une augmentation au mois de mars.

Concernant la sauge, une teneur de 22,6 mg/g MS de polyphénols totaux a été obtenue par Miliauskas *et al.* (2004), qui est très faible par rapport aux résultats que nous avons obtenus (277,82 mg/g MS). D'autre par, Achat (2005) a obtenu une teneur de 54,77 mg équivalent catéchine/g MS de polyphénols totaux, cela est dû probablement aux différents standards utilisés. D'autres travaux menés par Baskan *et al.* (2007), sur la même espèce, ont donné 5,5 % (m/m) de polyphénols totaux. Dans notre cas ce pourcentage est d'environ 28 % (m/m). Cette différence est due probablement à la taille des particules qui n'est pas la même et au solvant d'extraction utilisé. En effet, Baskan *et al.* (2007) ont utilisé un mélange de solvants (éthanol/eau) et la taille des particules est de 3 mm.

En outre, la température peut influencer également le rendement et la quantité de ces substances ; une température élevée donne un meilleur rendement en extrait et en composés phénoliques totaux. Ceci est dû à l'augmentation de la solubilité et du coefficient de diffusion du soluté (Durling *et al.*, 2006). Toutefois, des hautes températures sont à éviter car, dans ces conditions, il peut y avoir extraction de composés nuisibles et détérioration des substances extraites (Almela *et al.*, 2006).

La teneur en polyphénols apolaires contenue dans les extraits des feuilles de plantes est supérieure à celle des polyphénols polaires. Cela est dû probablement à la richesse de ces plantes en composés phénoliques apolaires.

L'extraction est influencée également par le rapport alcool/eau, mais ce rapport n'a pas d'effet significative sur le rendement en extrait total, par contre, son effet s'observe pour le taux de chaque constituant de l'extrait (Troncoso *et al.*, 2005 ; Durling *et al.*, 2006).

A coté de la solubilité des composés phénoliques, qui est gouvernée par le type de solvant utilisé (polarité), le degré de polymérisation des polyphénols, ainsi que leurs interactions avec d'autres substances de la plante et formation des complexes insolubles, ont aussi une influence sur l'extraction des composés phénoliques. Cependant il n'y a pas une procédure d'extraction uniforme ou complètement satisfaisante qui extrait tous les composés phénoliques ou une classe spécifique de ces substances à partir du matériel végétal (Naczki et Shahidi, 2004).

## II. 2. Flavonoïdes

Une couleur jaune est observée après l'ajout du chlorure d'aluminium à la solution méthanolique de quercétine. Cette couleur est aussi observée dans le cas des extraits de plantes, indiquant ainsi la présence de complexes par chélation des ions d'aluminium par les flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968). La teneur en flavonoïdes dans les extraits de plantes est exprimée en mg Equivalent Quercétine par g de Matière Sèche (mg EQ/g MS) (annexe 5), qui est représentée dans la figure 23.

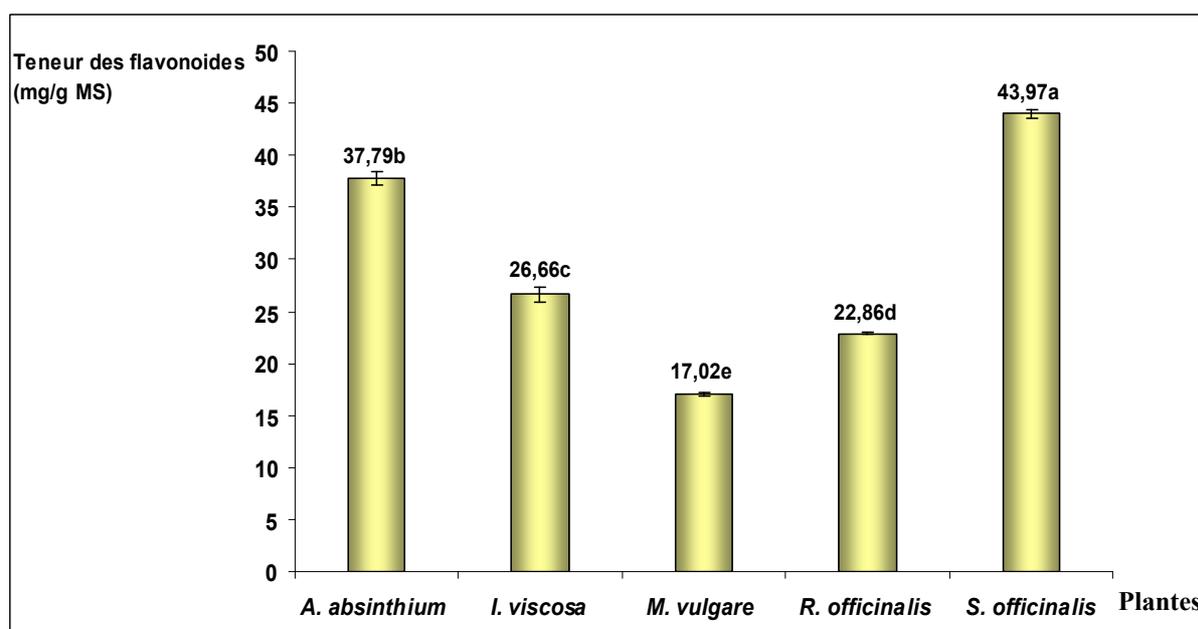


Figure 23 : Teneur en flavonoïdes des extraits de plantes

La plus grande quantité en flavonoides est trouvée chez *S. officinalis* (43,975 mg EQ/g MS) suivie par *A. absinthium* (37,797 mg EQ/g MS), *I. viscosa* (26,668 mg EQ/g MS), *R. officinalis* (22,860 mg EQ/g MS) et *M. vulgare* (17,021 mg EQ/g MS). Cette teneur diffère très significativement d'une espèce à l'autre ( $p < 0.001$ ).

Peu de travaux sur l'aspect quantitatif, a été réalisé sur *Inula viscosa*, néanmoins l'analyse qualitative a décelé la présence de trois flavonoides dans un extrait de dichlorométhane de cette espèce, qui sont : le rhamnocitrine, le 7-0-méthylaromadendrine et le 3-0-acétylpadmatine (Manez *et al.*, 1999). Dans le même extrait de cette espèce, Wang *et al.* (2004) détectent les mêmes flavonoides plus d'autres composés phénoliques.

Des quantités de 3,5 mg/g de flavonoides et de 0,6 mg/g de flavonols ont été obtenues dans l'extrait méthanolique de la sauge, par des études menées par Miliauskas et ses collaborateurs (2004). Ces résultats diffèrent de ceux trouvés dans la présente étude ceci est probablement dû à la différence du standard utilisé (qui est la rutine), et au protocole expérimental adopté par ces auteurs.

Pour *M. vulgare*, plusieurs flavonoides ont été identifiés par Sahpaz *et al.* (2002), citons la lutéoline, l'apigénine-7-glucoside, la lutéoline-7-glucosides et la vitexine. Pavela (2004) a démontré la présence de ces composés dans les extraits méthanoliques de *M. vulgare* et de *S. officinalis*. De même, Al-Bakri et Afifi (2007) ont révélé aussi, par des analyses colorimétriques de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. vulgare*, la présence de grandes quantités de flavonoides.

### II. 3. Tannins

La teneur en tannins des échantillons étudiés est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide tannique (annexe 2). L'absorbance augmente linéairement avec l'intensité de la couleur violette obtenue après ajout de  $\text{FeCl}_3$ , celle-ci est le résultat de la formation du complexe acide tannique-chlorure ferrique en solution alcaline (TEA/ SDS). La quantité de tannins dans les extraits de plantes est exprimée en mg Equivalent Acide Tannique par gramme de Matière Sèche (mg EAT/g MS) (annexe 5), et qui est représentée dans la figure 24.

D'après les résultats obtenus (figure 24), les tannins ont été détectés uniquement chez trois espèces (*I. viscosa*, *R. officinalis* et *S. officinalis*). La teneur en tannins de *I. viscosa* est approximativement 8 et 10 fois supérieure à celle obtenue chez *S. officinalis* et *R. officinalis* respectivement, dont la différence est très hautement significative ( $p < 0.001$ ).

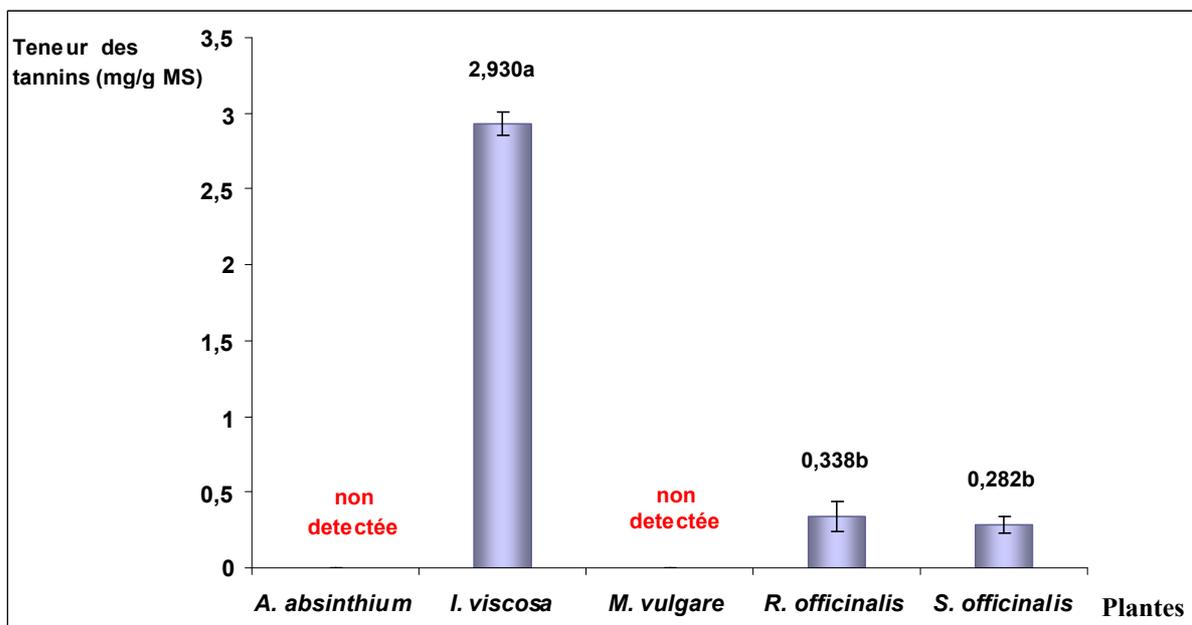


Figure 24: Quantité de tannins des extraits de plantes

Contrairement à ces trois espèces, l'ajout d'une solution de chlorure ferrique aux extraits de *A. absinthium* et de *M. vulgare* ne provoque pas le virage de la couleur de ces mélanges, indiquant ainsi l'absence du complexe acide tannique-chlorure ferrique, par conséquent, absence de tannins. Néanmoins les données de la littérature prouvent la présence de tannins chez *A. absinthium* (Ko *et al.*, 2006 ; Lachenmeier, 2006) et chez *M. vulgare* (Valnet, 1992). Cela peut être expliqué par la maturité de la plante. En effet, il a été observé que l'accumulation de composés phénoliques est inversement corrélée par le degré de développement de la plante. Le faible taux de polyphénols est observé chez les plantes âgées. Cela a été expliqué par l'augmentation des besoins de la plante en substrat carboné et en énergie, qui favorisent le flux métabolique pour une biosynthèse alternative de certains produits, essentiellement ceux de métabolites primaires qui prennent part dans leurs biomasses (Santos-Gomes *et al.*, 2003).

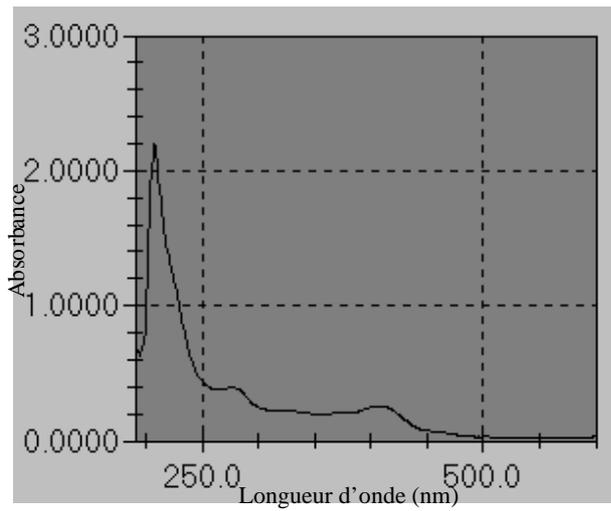
### III. Etude spectrale :

L'étude spectrale des extraits méthanoliques des plantes a donné les spectres d'absorption, avec un chevauchement de plusieurs pics entre 190 et 500 nm (figure 25). Ceci est dû à la présence de plusieurs classes de composés phénoliques.

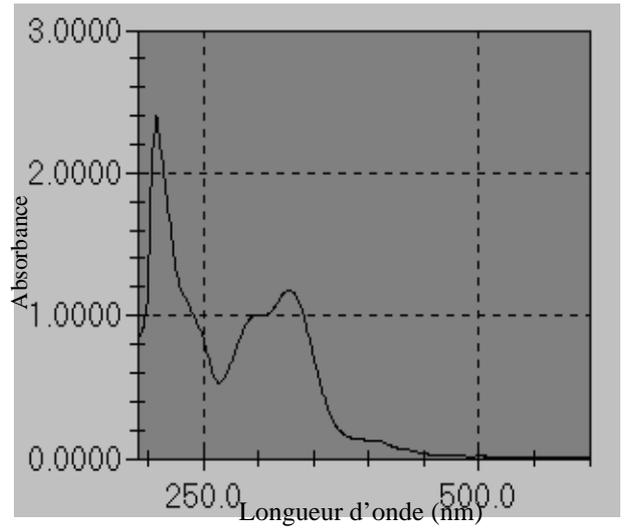
Tous les extraits méthanoliques de plantes présentent une forte absorbance aux longueurs d'onde allant de 190 à 250 nm, dont l'intensité des pics diffère d'une espèce à l'autre, et l'absorbance maximale est représentée par *R. officinalis* suivie par *I. viscosa*, *A. absinthium*, *S. officinalis* et *M. vulgare*. Selon Ribereau-Gayon (1968), ces absorbances peuvent être dû à la présence d'acides phénoliques qui absorbent entre 220 à 275 nm, et/ou aux flavones et flavonols qui absorbent à 240 et 270 nm

Un pic très marqué pour *I. viscosa* aux environ 295 et 380 nm, qui est dû probablement, à la présence des anthocyanines qui absorbent à 295 nm, et aux anthocyanidines qui absorbent entre 300 et 380 nm (Sotelo-Félix *et al.*, 2002; Atoui *et al.*, 2005). De même les autres espèces absorbent aussi dans cette zone mais avec un degré moindre.

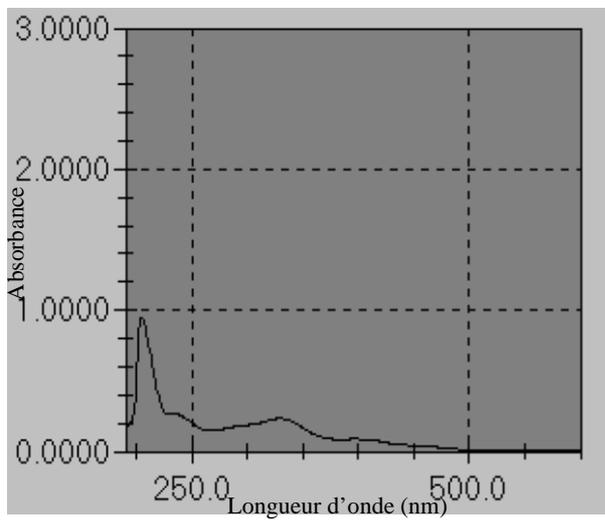
Troncoso et ses collaborateurs (2005), ont identifié dans un extrait méthanolique des feuilles du romarin la présence de plusieurs composés polaires et d'autres apolaires, qui sont représentés en annexe 6.



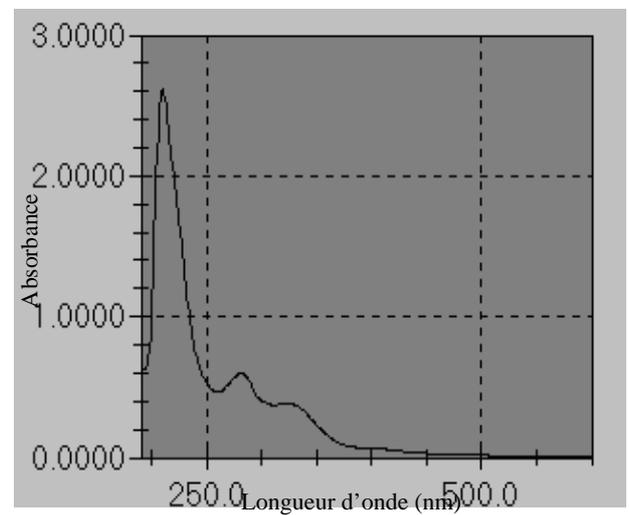
**A**



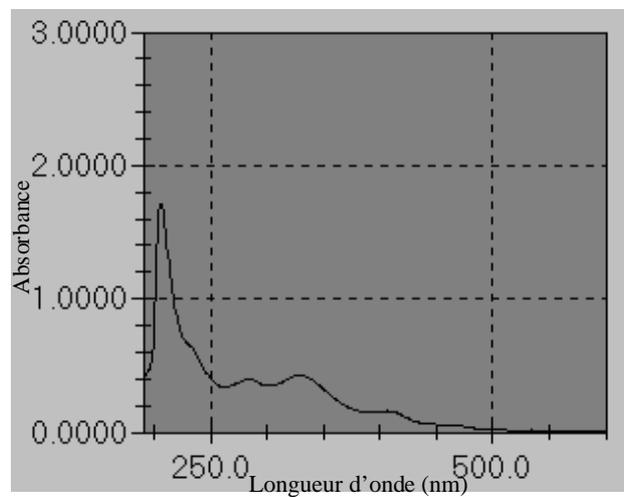
**B**



**C**



**D**



**E**

**Figure 25** : Spectres des extraits méthanoliques de plantes (**A** : *Artemisia absinthium*, **B**: *Inula viscosa*, **C** : *Marrubium vulgare*, **D**: *Rosmarinus officinalis*, **E**: *Salvia officinalis*)

#### IV. Etude de l'interaction entre les extraits polyphénoliques de plantes et la BSA

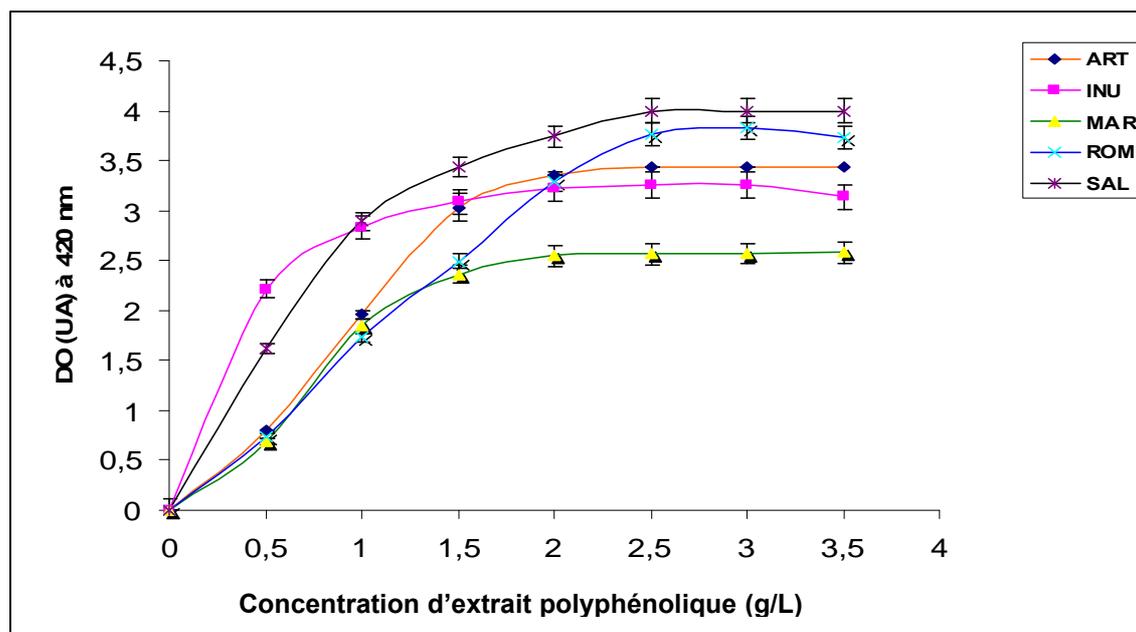
La lecture de la densité optique a été réalisée à une longueur d'onde de 420 nm. Ces interactions dépendent des conditions du milieu réactionnel notamment du pH, de la force ionique, de la température et des concentrations en protéines et en polyphénols (Gutzeit *et al.*, 2004).

##### IV. 1. Effet de la concentration d'extrait polyphénolique sur l'interaction polyphénols - BSA

Les résultats obtenus montrent une évolution de la densité optique, qui est proportionnelle à la concentration des extraits polyphénoliques pour toutes les plantes jusqu'à une certaine concentration, la densité optique reste stable ( $DO_{max}$ ), et sa valeur diffère d'une espèce à l'autre (figure 26).

- Pour *Artemisia absinthium*, la  $DO_{max}$  est atteinte à partir d'une concentration de l'extrait d'environ 2 g/L, elle est égale à 3,45.
- Pour *Inula viscosa*,  $DO_{max}$  = 3,65 à une concentration de l'extrait de 1,5 g/L.
- Pour *Marrubium vulgare*,  $DO_{max}$  = 2,54 à une concentration de l'extrait de 2 g/L.
- Pour *Rosmarinus officinalis*,  $DO_{max}$  = 3,80 à une concentration de l'extrait de 2,5 g/L.
- Pour *Salvia officinalis*,  $DO_{max}$  = 4 à une concentration de l'extrait de 2,5 g/L.

Au-delà de ces concentrations la DO reste constante même avec de grandes concentrations de l'extrait.



**Figure 26 :** Variation de la DO en fonction de la concentration d'extrait polyphénolique (ART: *Artemisia absinthium*; INU: *Inula viscosa*; MAR: *Marrubium vulgare*; ROM: *Rosmarinus officinalis* et SAL: *Salvia officinalis*).

D'après la figure 26 il est très clair que la densité optique augmente avec la concentration en extrait polyphénolique de chaque plante. Cela signifie qu'il y a formation du complexe polyphénol-BSA. En effet, les polyphénols, s'associent à un ou plusieurs sites sur la surface de protéine, formant une monocouche, et le complexe formé devient moins hydrophile que la protéine elle-même, ce qui conduit à la précipitation (de Freitas et Mateus, 2001a; Frazier *et al.*, 2003 ; Richard *et al.*, 2006).

Les concentrations 1,5 - 2 et 2,5 g/L représentent des valeurs saturantes à partir desquelles la variation de la densité optique n'est pas significative. Cependant, en deçà de ces valeurs, la variation est très hautement significative ( $p < 0,001$ ) pour tous les extraits. Ce phénomène a été expliqué par une saturation de la protéine BSA par les molécules de polyphénols. Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer ce comportement ; les protéines sont supposées posséder un certain nombre de sites de fixation. D'un autre côté, les polyphénols possèdent au maximum deux extrémités qui peuvent se lier aux protéines. Quand le nombre d'extrémités des polyphénols est égal au nombre de sites de fixation des protéines, il y'a formation d'un grand complexe donnant ainsi un maximum de dispersion de la lumière (Siebert, 1999 ; Poncet-Legrand *et al.*, 2006 ; Siebert, 2006).

Toutefois, nous avons constaté qu'en général, la valeur de la  $DO_{max}$  atteinte est différente significativement ( $p < 0,05$ ) d'une espèce à l'autre avec leurs concentrations correspondantes. Cela est peut être dû à la différence quantitative et qualitative en composés phénoliques.

Dans ce contexte, de Freitas *et al.* (2003) ont suggéré qu'il est possible d'estimer la stoechiométrie de complexes insolubles à partir de la concentration relative des polyphénols et de la BSA, correspondant aux maximums des agrégats insolubles formés. Quand la concentration des tannins est d'environ 7 fois plus que celle de la BSA, le maximum des agrégats est obtenu, indiquant ainsi un rapport molaire de polyphénols/BSA de 7/1. Par contre, un rapport molaire de polyphénols/BSA de 20/1 est obtenu pour un complexe entre le dimère de procyanidine B1 et la BSA.

- **Modélisation de l'interaction polyphénols - BSA :**

Les courbes obtenues ont des allures hyperboliques sous forme d'isothermes de Langmuir. Elles montrent un double comportement cinétique dépendant de la concentration des polyphénols des extraits de plantes. Un comportement d'ordre 1 vers des concentrations faibles, allant de 0 à 1,5 g/L (*A. absinthium* et *M. vulgare*), de 0 à 1 g/L (*I. viscosa*), de 0 à 2,5 g/L (*R. officinalis*), et de 0 à 2 g/L (*S. officinalis*). Et un comportement d'ordre 0 vers les concentrations les plus élevées à partir de 1,5 à 3,5 g/L (*A. absinthium* et *M. vulgare*), de 1 à 3,5 g/L (*I. viscosa*), de 2,5 à 3,5 g/L (*R. officinalis*), et de 3,5 g/L (*S. officinalis*).

Ces allures suivent un modèle hyperbolique généralement observé dans des études interactionnelles (ex : Complexométrie) de type  $y = ax / (ax+b)$  ; l'un des modèles possibles de fixation des polyphénols des différents extraits sur la BSA.

On désigne par :

[Poly] : Concentration des polyphénols de l'extrait de plante.

[BSA]: Concentration de la BSA.

[BSA-Poly]: Concentration de la BSA liée aux Polyphénols.

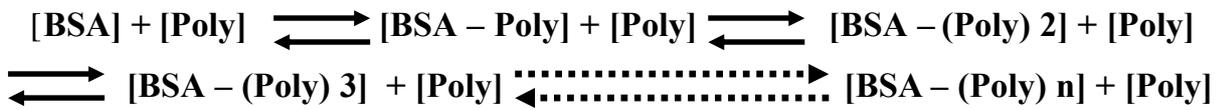
[BSA]<sub>T</sub> : Concentration de la BSA totale.

[BSA]<sub>L</sub> : Concentration de la BSA libre.

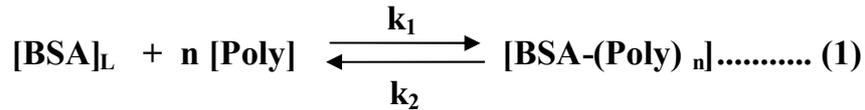
$k_1$  : Constante d'association.

$k_2$ : Constante de dissociation.

$K$  : Constante d'équilibre.



Ceci peut être récapitulé par:



Selon l'équation de conservation de masse:

$$[\text{BSA}]_T = [\text{BSA}-(\text{Poly})_n] + [\text{BSA}]_L \dots \dots \dots (2)$$

La vitesse initiale de la réaction est la variation de la densité optique en fonction de la variation du temps qui peut être exprimée comme suit :  $V_i = \frac{\Delta \text{DO}}{\Delta t}$  ; et pour  $\Delta t = 1h$

$$V_i = \text{DO} \dots \dots \dots (3)$$

D'après la figure 26, la DO est en fonction de la concentration de polyphénols, par conséquent, à partir de (3), on peut présenter la vitesse de la réaction en fonction de la concentration de polyphénols (figure 27).

À partir de (1), on peut déduire l'équation de la vitesse qui s'écrit :

$$V = k_1 [\text{BSA}]_L \cdot [\text{Poly}]^n - k_2 [\text{BSA} - (\text{Poly})_n] \dots \dots \dots (4)$$

A l'équilibre :  $V_f$  (vitesse de formation) =  $V_d$  (vitesse de dissociation)

Donc de (4) :  $k_1 [\text{BSA}]_L \cdot [\text{Poly}]^n = k_2 [\text{BSA}-(\text{Poly})_n]$

$$K = \frac{k_2}{k_1} = \frac{[\text{BSA}]_L \cdot [\text{Poly}]^n}{[\text{BSA}-(\text{Poly})_n]}$$

$$\text{De (2)} \quad K = \frac{([BSA]_T - [BSA - (Poly)_n]) [Poly]^n}{[BSA - (Poly)_n]}$$

$$\text{Donc : } [BSA - (Poly)_n] = \frac{[BSA]_T \cdot [Poly]^n}{K + [Poly]^n} \dots\dots\dots (5)$$

La vitesse initiale de la réaction (1) est proportionnelle à la concentration du complexe [BSA-(Poly)<sub>n</sub>] :  $V_i = k_1 [BSA - (Poly)_n]$

Lorsque [Poly] est en excès, la vitesse maximale de l'apparition de la turbidité n'est dépendante que de la [BSA], car dans ces conditions on peut considérer que toutes les molécules de BSA sont sous forme de complexe poly-BSA.

La concentration de polyphénols étant élevée, on peut négliger la quantité combinée à la protéine BSA et écrire :  $V_{max} = k_1 [BSA]_T$

On peut donc remplacer dans l'équation (5) [BSA-(Poly)<sub>n</sub>] et [BSA]<sub>T</sub> par  $V_i$  et  $V_{max}$  respectivement et on aura :

$$V_i = \frac{V_{max} [Poly]^n}{K + [Poly]^n} \dots\dots\dots (6)$$

D'où :

**K** pourrait éventuellement jouer le rôle de constante d'identification de l'extrait de plante. Sa valeur peut être déterminée à partir de la figure 27, qui peut représenter la concentration des polyphénols à la demi saturation des protéines à  $V_{max}/2$  :

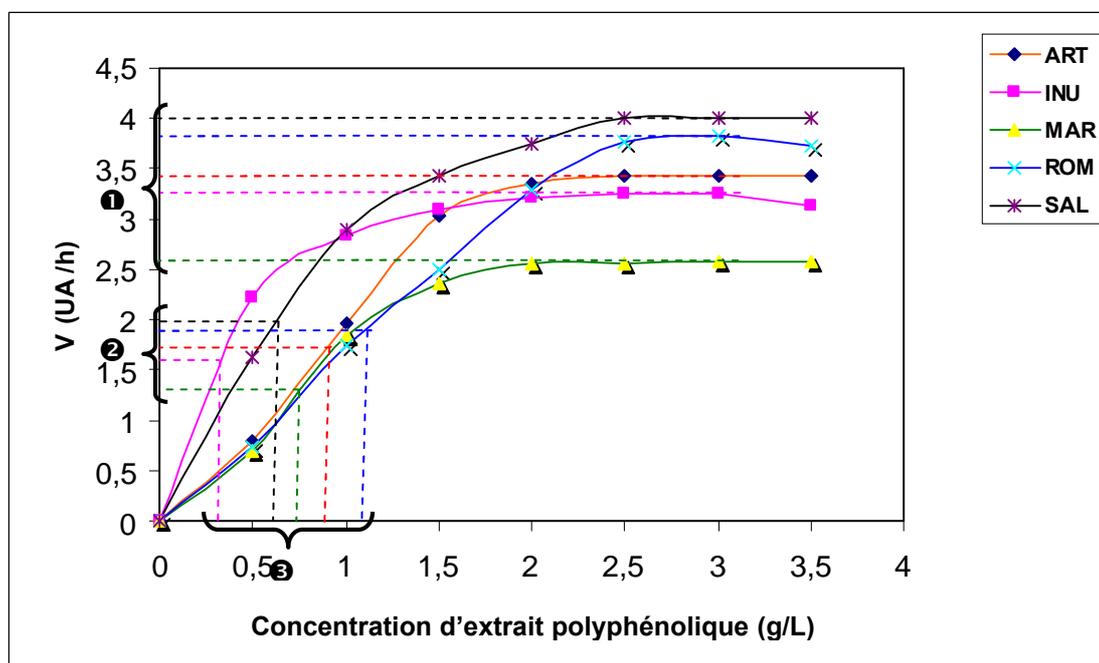
Remplaçant  $V_i$  par  $V_{max}/2$  dans 6, on aura :  $K = [Poly]^n$ .

A titre d'exemple, la valeur de **K** obtenue par Achat (2005), dans son étude réalisée sur *Salvia officinalis* est de 0,63 g/L qui est proche à celle obtenue dans la présente étude.

> La connaissance de cette constante peut prédire la valeur de la vitesse maximale, seulement l'extrait doit être à une concentration dix fois supérieure à la constante.

Supposant que  $C = 10K \Rightarrow V = 0,9999 V_{max}$  donc :  $V \sim V_{max}$

La vitesse de formation des complexes en fonction des concentrations des extraits est présentée dans la figure 27.



**Figure 27 :** Vitesse de formation des complexes en fonction de la concentration d'extrait polyphénolique (❶ :  $V_{\max}$  ; ❷ :  $V_{\max}/2$  ; ❸ :  $K$ )

A partir de ces courbes, nous pouvons déterminer approximativement, par extrapolation, les valeurs de ( $V_{\max}$ ,  $K$  et  $V_{\max}/2$ ) (Tableau IX).

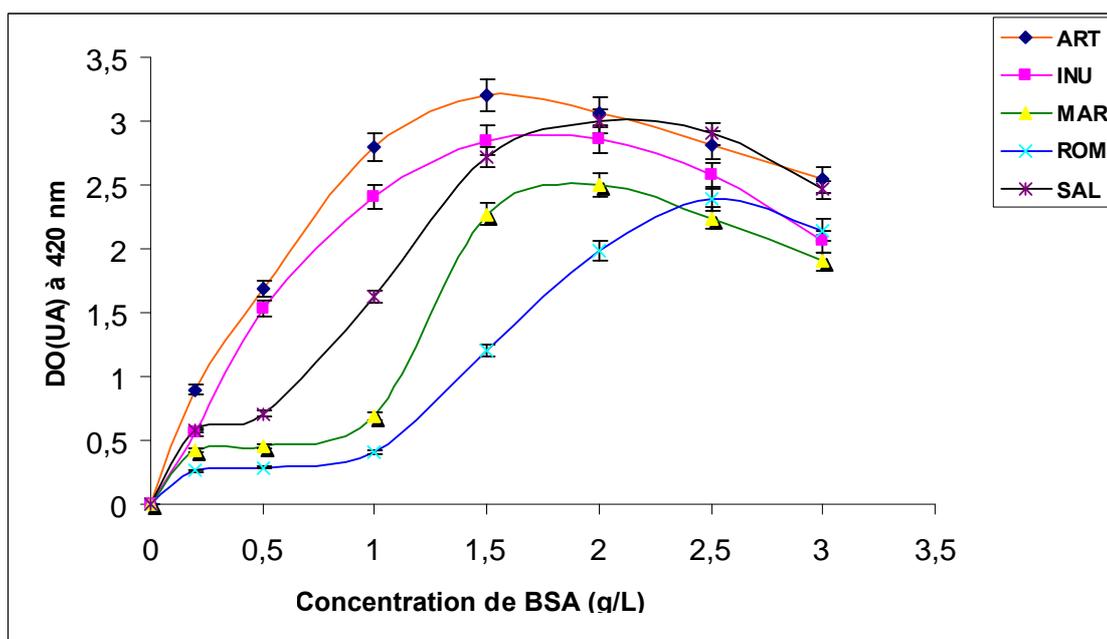
**Tableau IX :** Valeurs des vitesses et des concentrations des complexes formés entre les extraits polyphénoliques des plantes et la BSA :

	$V_{\max}$ (UA h <sup>-1</sup> )	$V_{\max}/2$ (UA h <sup>-1</sup> )	$K$ (g/L)
<i>Artemisia absinthium</i>	3,45	1,725	<b>0,85</b>
<i>Inula viscosa</i>	3,25	1,625	<b>0,3</b>
<i>Marrubium vulgare</i>	2,65	1,325	<b>0,75</b>
<i>Rosmarinus officinalis</i>	3,8	1,9	<b>1,1</b>
<i>Salvia officinalis</i>	4	2	<b>0,625</b>

#### IV. 2. Effet de la concentration de BSA sur l'interaction polyphénols - BSA

Le suivi de la turbidité des mélanges (extraits méthanoliques de plantes et solution de BSA) en fonction de la concentration de BSA, a donné des courbes ayant une allure plus ou moins en cloche (figure 28).

- La variation de la DO n'est pas significative aux concentrations de BSA allant de 0,2 à 1 g/L pour *R. officinalis* et *M. vulgare* et aux concentrations de BSA allant de 0,2 à 0,5 g/L pour *S. officinalis*. Cependant cette variation est très hautement significative ( $p < 0,001$ ) pour les autres espèces (*A. absinthium* et *I. viscosa*), à partir des concentrations de BSA allant de 0,2 à 1 g/L.
- Au-delà de ces concentrations (1 à 1,5 g/L), la DO augmente significativement avec la concentration de BSA, pour toutes les plantes.
- A partir des concentrations élevées de BSA (généralement de 2 à 3 g/L), la DO diminue significativement de la même manière pour toutes les espèces, d'où la valeur de la  $DO_{max}$  atteinte, diffère d'une espèce à l'autre, qui sont approximativement :
  - Pour *R. officinalis* la  $DO_{max}$  est d'environ 2 à une concentration de BSA de 2,5 g/L.
  - Pour *M. vulgare* la  $DO_{max}$  est d'environ 2,4 à une concentration de BSA de 3g/L.
  - Pour *S. officinalis* la  $DO_{max}$  est d'environ 3 à une concentration de BSA de 2,5 g/L.
  - Pour *A. absinthium* la  $DO_{max}$  est d'environ 3,4 à une concentration de BSA de 1,5 g/L
  - Pour *I. viscosa* la  $DO_{max}$  est d'environ 2,8 à une concentration de BSA de 1,7 g/L.



**Figure 28 :** Variation de la DO en fonction de la concentration de BSA

D'après les résultats obtenus, nous constatons clairement que la densité optique varie significativement d'un échantillon à l'autre, dans la zone de faibles concentrations de BSA (0,2 à 1 g/L). Cela est dû vraisemblablement, à la différence quantitative et qualitative des composés phénoliques présents dans chaque extrait. Cela a été expliquée par des études menées par de Freitas et Mateus (2001b), qui suggèrent ainsi que les interactions polyphénols-protéines nécessitent la présence d'un certain nombre de polyphénols et de protéines dans le milieu réactionnel, et aussi dépendent du type de protéines impliquées. En effet, dans leurs études, de Freitas et Mateus (2001b) ont observé qu'une faible quantité de PRPs est nécessaire pour lier toutes les molécules de tannins présentes dans la solution, par rapport à la BSA et  $\alpha$ -amylase, ce qui a été expliqué par la différence dans leur structure (ouverte pour les PRPs) avec des sites de liaisons très actifs que la conformation globulaire de la BSA.

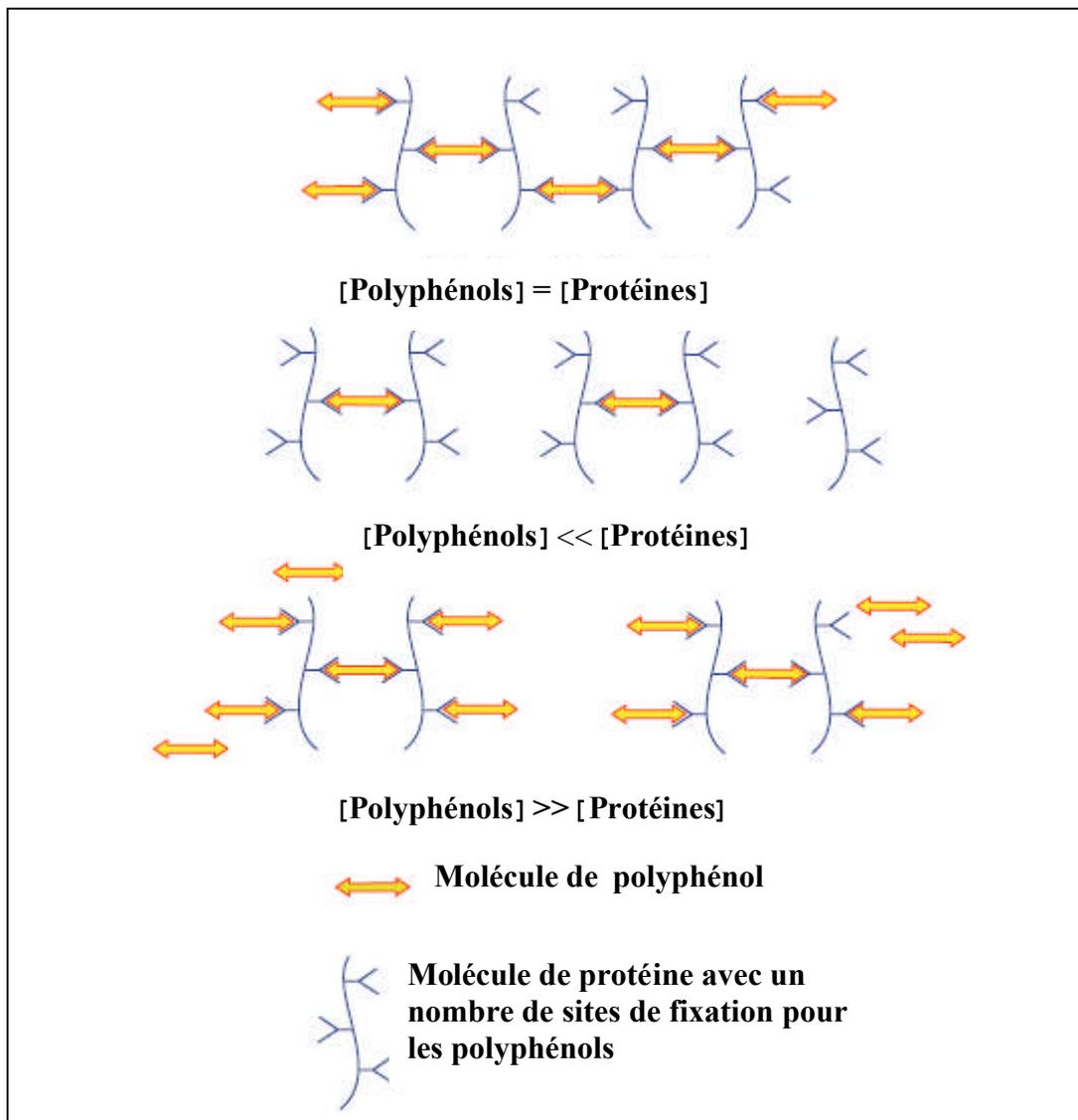
L'augmentation de la turbidité est significative avec l'augmentation de la concentration de BSA, dans la solution jusqu'à une certaine concentration, où la DO diminuera. de Freitas et ses collaborateurs (2003), ont observé le même comportement, et d'après leurs explications, les complexes polyphénols-BSA dispersés dans la solution augmentent progressivement avec l'addition de protéines jusqu'au maximum, au-delà il n'y a pas d'autres précipitations, donc la DO diminue régulièrement, et à partir de ce point,

l'addition progressive de la BSA provoque une dissociation des agrégats insolubles. Ceci peut s'expliquer par la réversibilité des interactions polyphénols-protéines et par le changement stoechiométrique du complexe formé, à cause du changement du rapport entre polyphénols et protéines (de Freitas *et al.*, 2003 ; Naczki *et al.*, 2006).

Comme, nous pouvons suggérer également que la réversibilité de la formation de ces complexes est due, éventuellement, à la nature des liaisons formées entre les polyphénols et la BSA qui sont peut être faibles, dépendant du type de polyphénols présents dans le milieu réactionnel, tel qu'il a été constaté avec des travaux réalisés par de Freitas et Mateus (2001a). Cette faible interaction peut être expliquée aussi par le type de protéines mises en jeu, car l'interaction des polyphénols avec les protéines globulaires (ce qui est le cas de la BSA) implique dans la plupart des cas, uniquement, les cycles aromatiques exposés à la surface de la protéine (de Freitas *et al.*, 2003).

En récapitulant, Siebert (2006) a démontré d'après des études réalisées dans des systèmes modèles, que la quantité de sédiments formés dépend des concentrations de protéines et de polyphénols et du rapport entre les deux (figure 29). Quand le nombre total de terminaisons de polyphénols CS (Causant-Sédimentation) est à peu près égal au nombre de points de liaisons des protéines CS (probablement des résidus de proline), un vaste réseau de grosses particules colloïdales se formera, causant un maximum de turbidité dans la solution (Siebert *et al.*, 1996; Siebert, 1999). Lorsque les protéines CS sont en plus grand nombre, il n'y a pas suffisamment de molécules de polyphénols pour lier ces dimères. Cela induit la formation de plus petites particules et moins de turbidité (de Freitas et Mateus, 2001a). Lorsque ce sont les polyphénols qui sont en excès, tous les points de liaison sur les protéines étant occupés, il est difficile de réunir plusieurs protéines ensemble pour former le réseau. Encore une fois cela donne de plus petites particules et moins de turbidité (Siebert, 2006).

En général ce test montre qu'il y a une influence de la concentration de la BSA sur la quantité des agrégats insolubles formés, avec tous les extraits de plantes étudiées.



**Figure 29** : Différentes possibilités de précipitation des protéines par les polyphénols (Siebert, 2006).

#### IV. 3. Effet du pH sur l'interaction polyphénols - BSA

Selon les courbes présentées dans la figure 30, nous pouvons dire qu'en général la variation du pH du milieu influe fortement sur les interactions polyphénols-protéines (variation en dent de scie). A pH 3 la DO est faible pour tous les échantillons, avec des valeurs plus ou moins différentes d'une plante à l'autre ; pour *A. absinthium* (environ 0,6), *I. viscosa* (environ 0,2), *M. vulgare* et *R. officinalis* (vers 0,05), *S. officinalis* (proche de 0,2). Au-delà de ces valeurs de pH la DO augmente significativement avec l'augmentation du pH jusqu'aux :

- Environs de pH 5 pour les deux espèces ; *M. vulgare* et *R. officinalis* puis diminue aux environs de pH 5,5 et 6, par la suite la DO augmente avec le pH jusqu'à un pH 7, la DO diminue pour *R. officinalis* au pH >7, mais progresse pour *M. vulgare*.
- La DO augmente aux valeurs de pH 3 et 3,5 ; diminue après aux valeurs de pH 3,5 et 5, ensuite la DO augmente pour les pH allant de 5 à 7, puis diminue avec l'augmentation du pH pour *I. viscosa*.
- Pour *S. officinalis*, la DO augmente pour les pH compris entre 3 et 4,5, et diminue par la suite aux pH allant de 4,5 à 5,5 ; au-delà la DO augmente pour les valeurs de pH allant de 5,5 aux valeurs supérieures à 8.
- La DO pour *A. absinthium* augmente dans la zone de pH allant de 3 à 5, diminue dans la zone de pH allant de 5 à 6, et enfin la DO augmente jusqu'à pH 7.

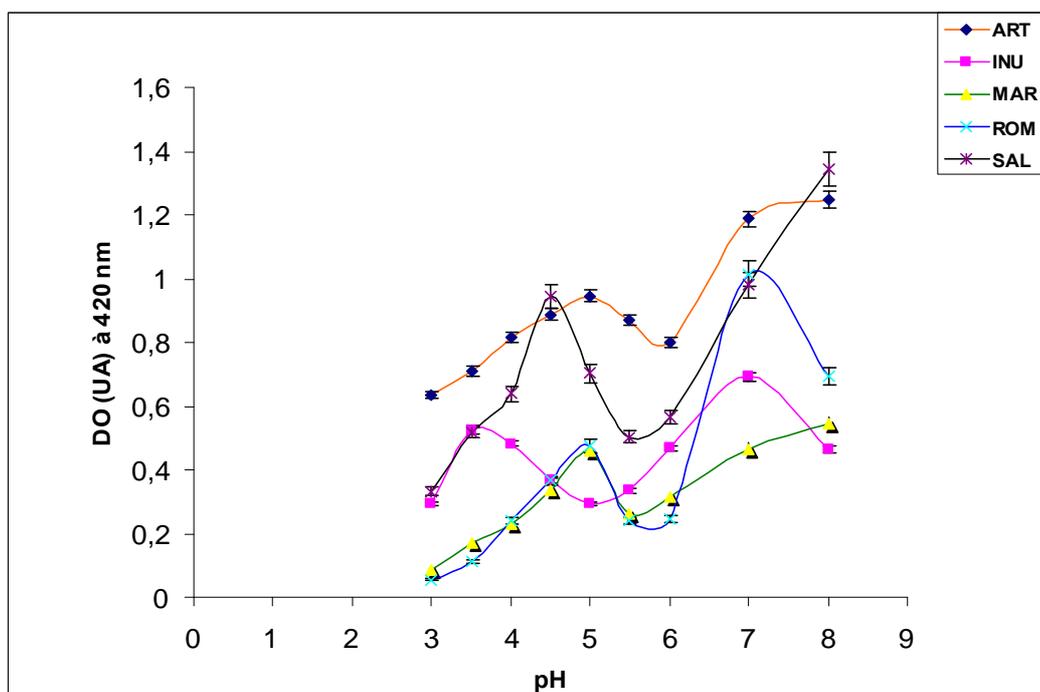


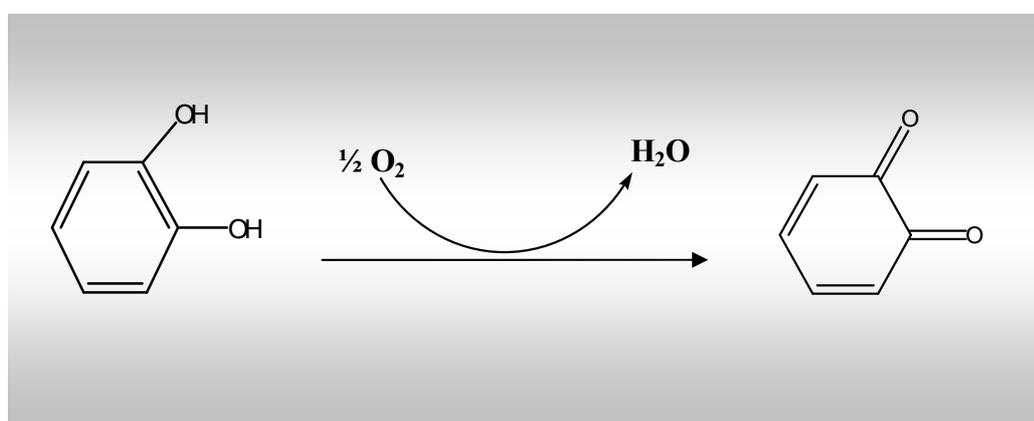
Figure 30 : Variation de la DO en fonction du pH.

En général, deux maxima s'observent clairement pour tous les échantillons. Le premier pic se montre au pH 3 à 6 sauf pour *I. viscosa* (au pH 3 à 4) et le deuxième pic est dans la zone du pH allant de 6 à 8 pour le *R. officinalis* et *A. absinthium*, de 5 à 7 pour *I. viscosa*, et de 6 à plus de 8 pour *S. officinalis* et *M. vulgare*. La différence entre les deux pics est significative ( $p < 0,05$ ) pour toutes les plantes.

Ces résultats, dans une certaine mesure sont conformes à ceux obtenus par Siebert (2006), avec quelques différences, qui sont dues probablement aux polyphénols étudiés et aux conditions expérimentales. En effet, les résultats d'analyse obtenus par cet auteur, montrent que le pH a un effet sur le mécanisme d'interaction des protéines avec les polyphénols.

La densité maximale est observée dans le deuxième maximum pour toutes les espèces. Nous pouvons dire dans ce cas, que les liaisons d'interactions aux pH supérieurs à 6, sont plus fortes à celles établies aux pH inférieurs. Cette forte interaction est probablement due au nombre de polyphénols qui participent dans la formation du complexe polyphénol-BSA, et à une formation de composés très réactifs à partir des composés phénoliques, augmentant ainsi leur affinité avec les protéines (Lin *et al.*, 2004). En effet, Prigent (2005) a affirmé que dans un milieu neutre ou basique, les composés phénoliques, peuvent s'oxyder donnant naissance à des quinones très réactifs, qui peuvent interagir fortement avec la protéine BSA. L'augmentation du pH induit la déprotonation des groupements hydroxyles des polyphénols, qui conduit à la formation de quinones (figure 31). Cette molécule est très instable et tend à réagir, par les mécanismes d'oxydoréduction avec d'autres molécules, par polymérisation avec d'autres composés phénoliques, ou bien par des réactions covalentes avec les molécules de protéines.

En outre, les charges des protéines dans un milieu acide ( $\text{pH} < \text{pI}$ ), ou dans un milieu alcalin ( $\text{pH} > \text{pI}$ ) augmentent et par conséquent les répulsions électrostatiques augmentent, qui mène à l'augmentation des interactions hydrophobes avec les composés phénoliques (Zayas, 1997).



**Figure 31** : Oxydation d'un diphenol en diquinone (Prigent, 2005).

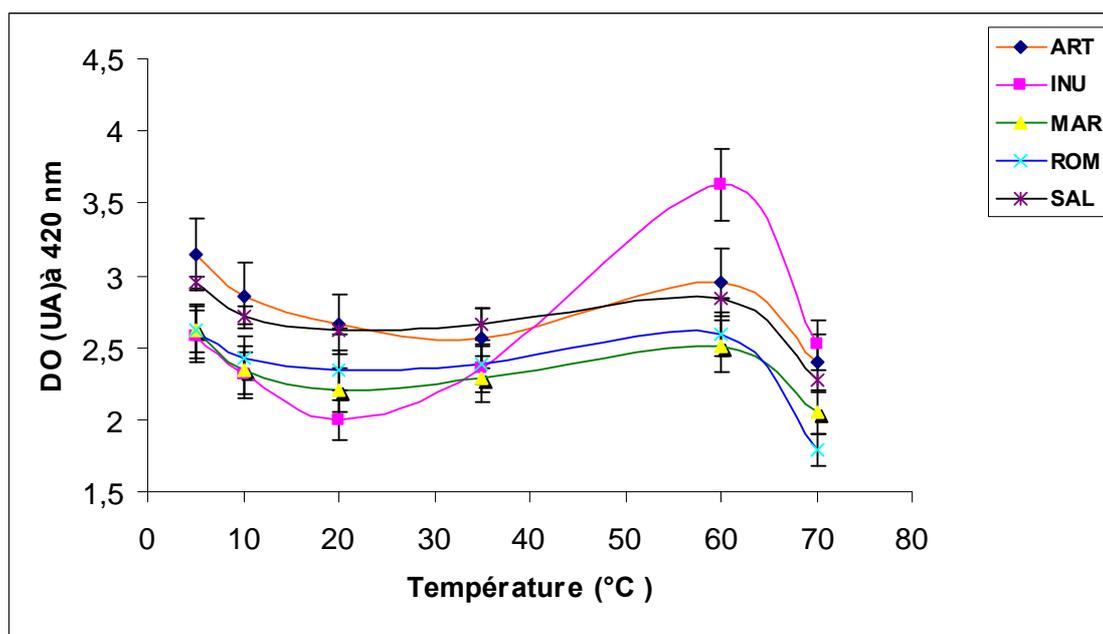
La diminution de la densité optique, peut être expliquée par la réduction du nombre total de sites de liaisons des polyphénols sur la molécule de BSA, qui est due à la variation du pH, et aux types de polyphénols présents dans les extraits de plantes. Des études menées par Hatano et ses collaborateurs (2003), qui portaient sur l'effet du pH sur la formation du complexe polyphénols-BSA, ont révélé que ces interactions sont très dépendantes du type de polyphénols, ainsi que de la concentration initiale de polyphénols et celle des protéines mises dans le milieu réactionnel.

#### **IV. 4. Effet de la température sur l'interaction polyphénols - BSA**

La variation de la température de 5 à 60°C n'a pas d'effet significatif sur la formation du complexe polyphénols-BSA, par conséquent, des courbes avec des allures identiques ont été obtenues avec tous les extraits de plantes à l'exception de l'espèce *I. viscosa*, chez laquelle nous avons remarqué une augmentation significative de la DO à partir de température de 35°C (figure 32). Cela peut être expliqué par la différence de la composition de chaque extrait, par conséquent une différence de type de liaisons intervenant dans l'interaction. En effet, la nature des polyphénols a un effet significatif sur le mécanisme d'interaction, tel qu'il a été démontré par certains auteurs. L'augmentation régulière dans le nombre de cycles aromatiques et pyranes des procyanidines prouve une multiplicité des sites de liaisons de nature hydrophobe, stabilisées par des liaisons hydrogène à partir des groupements o-dihydroxyphénols (de Freitas et Mateus, 2001a).

Par extrapolation aux résultats obtenus dans la présente étude, et selon les résultats de dosage ; nous avons obtenu une quantité importante de tannins chez l'espèce *I. viscosa* par rapport aux autres espèces, cela signifie qu'il y a plus de structures aromatiques qui interviennent dans les interactions hydrophobes.

En présence de polyphénols avec un degré de polymérisation élevé et l'augmentation dans la température renforce les interactions hydrophobes, contrairement aux liaisons hydrogène qui diminuent avec l'augmentation de la température, comme il a été constaté par des travaux réalisés par Prigent (2005).



**Figure 32 :** Variation de la DO en fonction de température

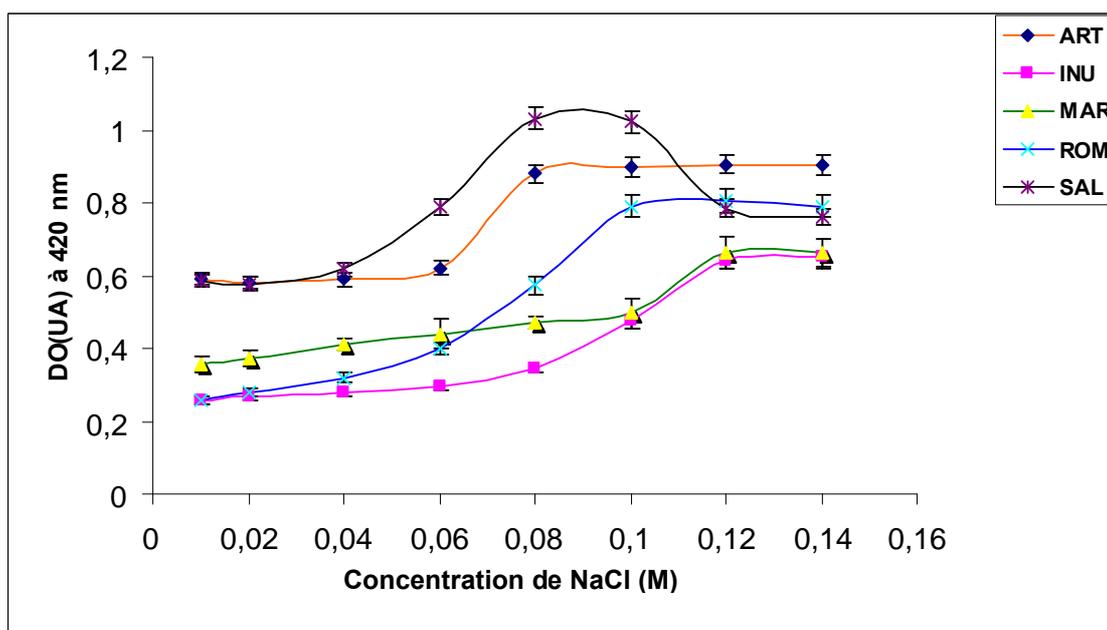
Cependant l'augmentation de la température au delà de 60°C induit la diminution de la densité optique et par conséquent réduction du nombre de complexe polyphénols-protéines. Cela est due à la dénaturation de la protéine BSA à ces températures (Michnik *et al.*, 2005). D'après Prigent (2005), la température affecte l'affinité des polyphénols et le nombre de sites de liaison aux protéines. L'augmentation de la température, engendre la dénaturation de la BSA, diminue ainsi le nombre de molécules de polyphénols liées aux molécules de BSA de 50 %. La diminution de sites de liaisons des polyphénols sur la protéine BSA dénaturée, comparée à la BSA native, a été expliquée par la diminution de la surface totale de la protéine, induite par l'agrégation de la BSA et par conséquent la diminution du nombre d'acide aminés exposés à la surface. Dans certains cas, la BSA peut résister à la dénaturation ceci est due aux fortes liaisons entre la BSA et les polyphénols.

Par comparaison aux résultats obtenus, nous pouvons dire qu'en général l'augmentation de la température n'a pas vraiment d'effet sur le mécanisme interactionnel entre protéines et polyphénols, dans le cas où la protéine n'est pas dénaturée.

#### IV. 5. Effet de la force ionique sur l'interaction polyphénols-BSA

D'après les résultats obtenus (figure 33), la concentration en NaCl dans les solutions étudiées, influe sur le mécanisme d'interaction entre polyphénols et protéines, néanmoins des différences sont observées pour chaque échantillon.

- Pour *A. absinthium* la DO est constante aux [NaCl] allant de 0.01 à 0.06 M, ensuite elle augmente aux [NaCl] allant de 0.06 à 0.08 M. Au-delà de cette concentration elle reste constante aux [NaCl] allant de 0.08 à 0.14 M.
- Pour *I. viscosa* la DO augmente très légèrement aux [NaCl] allant de 0.01 à 0.08 M, ensuite augmente de manière très remarquable aux [NaCl] allant de 0.08 à 0.12 M, puis reste inchangé jusqu'à une [NaCl] = 0.14 M.
- Pour *M. vulgare* la DO est constante, ou augmente légèrement aux [NaCl] allant de 0.01 à 0.1 M. La DO augmente un peu plus aux [NaCl] allant de 0.1 à 0.12, au-delà elle reste inchangée.
- Pour *R. officinalis* la DO augmente aussi très faiblement aux [NaCl] allant de 0.01 à 0.06 M, un peu plus aux [NaCl] allant de 0.06 à 0.1 M, ensuite elle reste constante.
- Pour *S. officinalis*, la DO est constante aux [NaCl] allant de 0.01 à 0.02 M, elle augmente fortement aux [NaCl] allant de 0.02 aux alentours de [NaCl] de 0.09 M au-delà la DO diminue aux [NaCl] allant de 0.09 à 0.132 M, puis reste constante aux [NaCl] allant de 0.12 à 0.14 M.



**Figure 33** : Variations de la DO en fonction de la concentration de NaCl

D'après la figure 33, aucune variation significative de la DO n'est observée à de faibles concentrations en NaCl (généralement de 0,01 M à 0,04 M). Cela montre que la force ionique ne présente aucune action sur le complexe polyphénols-BSA à ces concentrations. Par contre à un certain seuil de force ionique (à partir de 0,06 M), la DO augmente régulièrement jusqu'à une valeur maximale puis reste constante pour toutes les plantes mise à part *S. officinalis*, chez laquelle nous avons remarqué une courbe en cloche et la  $DO_{max}$  est atteinte à une concentration de NaCl de 0,09 M. Au-delà de cette concentration, la turbidité diminue, par conséquent la quantité des complexes protéine-polyphénols diminue. Cela est probablement dû à la solubilité de la protéine BSA, tel qu'il a été observé par Prigent (2005). Cet auteur a conclu qu'à des forces concentrations de NaCl très faibles ou très élevées (0,062 M et 0,184M) les sites de liaison de la BSA ont une très faible affinité pour les polyphénols, ce qui est dû probablement, à l'augmentation de la solubilité des protéines, par les phénomènes de solvation.

A des concentrations bien déterminées pour chaque échantillon (généralement de 0,04 à 0,1 M), la turbidité des solutions étudiées augmente avec la concentration en NaCl. En effet, selon Simon (2003), la charge globale de la protéine est diminuée par les ions qui réduisent les répulsions électrostatiques entre les protéines, ce qui concorde avec les

résultats obtenus. Par conséquent, il y'a une augmentation de la complexation par les interactions hydrophobes entre les protéines et les polyphénols.

En conclusion, les surfaces d'accessibilité des polyphénols des extraits de plantes et de la protéine BSA dépendent fortement du caractère ionique du milieu réactionnel (Simon, 2003); montrant ainsi le phénomène salting in - salting out, qui peut être résumé par trois explications :

**1-** Poncet-Legrand et ses collaborateurs (2006), ont démontré qu'à une certaine force ionique les polyphénols apolaires ont une faible affinité pour l'eau favorisant ainsi une forte association entre les protéines et les polyphénols. A forte force ionique, en effet, la fixation des molécules d'eau sur les ions de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ , facilite l'accessibilité des polyphénols sur la surface des protéines, augmentant ainsi les interactions de type hydrophobe.

**2-** L'adsorption des ions de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  sur les molécules de polyphénols contenus dans les extraits de plantes, ou leur agglutination sur les groupements chargés de la BSA, affaiblit ainsi la tendance des composés phénoliques à interagir avec la protéine (Simon, 2003).

**3-** Des travaux menés par de Freitas et ses collaborateurs (2003), ont démontré également, que ces ions peuvent se fixer directement sur la surface du complexe polyphénols-BSA formant une monocouche ionique, et favorisant les interactions de type hydrophile, conduisant ainsi à la solubilisation du complexe, ce qui explique la diminution de la densité optique (cas de *Salvia officinalis*).

Ces divers comportements pour chaque plante, sont dûs probablement, à la différence des liaisons qui interviennent dans le maintien du complexe polyphénols-BSA, qui dépendent de la qualité et de la quantité des polyphénols présents dans chaque extrait.

*Conclusionet perspectives*

## Conclusion et perspectives

A la lumière des résultats obtenus dans la présente étude, nous pouvons dire qu'en général, les plantes étudiées renferment différentes catégories de composés phénoliques ; des polyphénols totaux qui varie entre 74,25 (*A. absinthium*) et 350,95 mg/g (*R. officinalis*), des polyphénols polaires qui varie entre 23,66 (*M. vulgare*) et 120,68 mg/g (*S. officinalis*) et des polyphénols apolaires qui présentent des quantités considérables chez toutes les espèces, par rapport aux polyphénols polaires, qui est probablement dû à la richesse de ces plantes en ces composés.

La quantité des flavonoides varie entre 17,021 (*M. vulgare*) et 43,975 mg/g (*S. officinalis*). Cependant les tannins, ont été détectés chez *S. officinalis*, *R. officinalis* et *I. viscosa*, avec des quantités de 0,285 ; 0,34 et 2,93 mg/g respectivement. De plus, l'étude spectrale des extraits méthanoliques de ces plantes a confirmé dans une certaine mesure, la présence de ces composés.

Néanmoins, la comparaison de ces résultats avec ceux de la littérature concernant les mêmes espèces a révélé des différences plus ou moins importantes au niveau de la teneur en composés phénoliques. Ces différences pourraient être dues à plusieurs facteurs à savoir l'origine géographique de la plante, les méthodes d'extraction, l'âge de la plante, la période de récolte, etc.

Au cours de ce travail, une propriété biologique des composés phénoliques, a été également démontrée par l'aspect turbide des solutions analysées. Ce qui traduit, la formation des complexes entre les extraits polyphénoliques et la BSA. De même, ces interactions sont fortement influencées par la variation des paramètres intrinsèques (concentrations de la BSA et des extraits polyphénoliques), et extrinsèques (le pH, la force ionique et la température). Toutefois, l'effet de la température est faible voir négligeable, sauf pour l'*Inula viscosa* L. pour laquelle une augmentation de la densité

optique a été enregistrée aux températures supérieures à 35 °C, qui est probablement dû à la quantité élevée des tannins déterminée chez cette espèce.

De ce fait, d'autres aspects du thème peuvent être envisagés à l'avenir à savoir :

- Etendre cette étude à d'autres plantes médicinales locales, et à d'autres parties de plantes afin de les caractériser à l'échelle national et international ;
- Etude quantitative et qualitative des composés phénoliques et d'autres principes actifs tel que les huiles essentielles et les alcaloïdes avec des techniques plus performantes (HPLC, GC-MS, RMN, etc.) ;
- Etude du phénomène interactionnel des extraits polyphénoliques des plantes avec d'autres protéines (protéines salivaires, HSA, enzymes digestifs, etc.), et son évaluation à l'échelle moléculaire avec des méthodes plus spécifiques telle que la Néphélométrie ;
- Etude d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés antiradicalaires, antibactériennes, anti-inflammatoires, anti-virales, et d'évaluer leurs activités biochimiques et pharmacologiques, *in vitro* et *in vivo*.

## *Références bibliographiques*

- Abe F., Yamauchi T., Nagao T., Kinjo J., Okabe H., Higo H. et Akahane H. (2002).** Ursolic acid as a trypanocidal constituent in Rosemary. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25, **11**, 1485 - 487.
- Abu-Shanab B., Adwan G., Abu-Safiya D., Jarrar N. et Adwan K. (2004).** Antimicrobial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turkish Journal of Biology*, 28, 99 -102.
- Abutbul S., Golan-Goldhirsh A., Barazani O. et Zilberg D. (2004).** Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*, 238, 97 - 105.
- Achat S. (2005).** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas *Salvia officinalis* avec la protéine sérumalbumine bovine. Mémoire de magister, 67p.
- Adersen A., Gauguin B., Gudiksen L. et Jager A. K. (2006).** Ethnopharmacological communication screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 104, 418 - 422.
- Al-Bakri A. G. et Afifi F. U. (2007).** Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*, 68, 19 - 25.
- Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J. P. et Mason T. J. (2004).** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 261 - 265.
- Al-Dissi N. M., Salhab A. S., Al-Hajj H. A. (2001).** Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 117 - 121.
- Alexandropoulou I., Komaitis M. et Kapsokefalou M. (2006).** Effects of iron, ascorbate, meat and casein on the antioxidant capacity of green tea under conditions of *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 94, 359 - 365.
- Ali-Shtayeh M. S., Yaniv Z. et Mahajna J. (2000).** Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 221 - 232.
- Almela L., Sanchez-Munoz B., Fernandez-Lopez J. A., Roca M. J. et Rabe V. (2006).** Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120, 221 - 229.
- Alzoreky N. S. et Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 223 - 230.
- Amin T. A. et Hamza A. A. (2005).** Hepatoprotective effects of Hibiscus, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*, 77, 266 - 278.

- Andrade P.B., Santos-Gomes P. G., Seabra R. M. et Fernandez-Ferreira M. (2003).** Determination of phenolic compounds produced by cali shoots and cell suspension of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Plant Physiology*, 160, 1025 - 1032.
- Atoui A. K., Mansouri A., Boskou G. et Kefalas P. (2005).** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27-36.
- Avato P., Fortunato I. M., C Ruta. et Elia D. (2005).** Glandular hairs and essential oils in micropropagated plants of *Salvia officinalis* L. *Plant Science*, 169, 9 - 36.
- Baba Aissa F. (1991).** Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchène et Ad-Diwan, p 11, 159.
- Baba Aissa F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. In « Flore d'Algérie et du Maghreb ». Ed : Librairie moderne Rouiba, pp 252 - 253.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. et Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch Drug Research*, 46, 1086 - 1108.
- Bailly F., Queffelec C., Mbemba G., Mouscadet J. F. et Cotelle P. (2005).** Synthesis and HIV-1 integrase inhibitory activities of caffeic acid dimers derived from *Salvia officinalis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15, 5053 - 5056.
- Bartel A. (1997).** *Salvia officinalis*. In «Guide des plantes du bassin méditerranéen ». Ed: Eugen Ulmer. pp 324 - 325.
- Baskan S., Oztekin N. et Erim B. (2007).** Determination of carnosic acid and rosmarinic acids in sage by capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, 101, 1748 - 1752.
- Beloued A. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed: Office des Publications Universitaires. pp 32 - 34.
- Banazzouz L. (2005).** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas : extrait de *Nigella sativa* avec la protéine sérumalbumine bovine. Mémoire de magister, 78p.
- Bennick A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13, 2, 184 -196.
- Berrougui H., Isabelle M., Cherki M. et Khalil A. (2006).** *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in THP-1 macrophage. *Life Sciences*, 80, 105 - 112.
- Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. et Trotin F. (1990).** Plantes médicinales des régions tempérées. Ed: MALOINE, Paris, 2, pp 297 - 362.
- Bors W., Michel C., Stettmaier K., Lu Y. et Foo L. Y. (2003).** Pulse radiolysis, electron paramagnetic resonance spectroscopy and theoretical calculations of caffeic acid oligomer radicals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1620, 97 - 107.

- Boxtel C. J. V., M. D. et Ph D. (2004).** *Artemisia* and artemisinin, a story about toxicity. *Clinical Pharmacology*, University of Amsterdam, pp 1 - 4.
- Brahmi F. (2005).** Etude des interactions polyphénolsprotéines: étude de cas *Mentha spicata*. Mémoire de magister, 69p.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed: Lavoisier, 2, pp 200 - 225.
- Boulebeche L. (2005).** Profil GC-MS des polyphénols des extraits de plantes médicinales: étude de cas Eucalyptus globules. Mémoire de magister, 71p.
- Cai K., Hagerman A. E., Minto R. E. et Bennick A. (2006).** Decreased polyphenol transport across cultured intestinal cells by a salivary proline-rich protein. *Biochemical Pharmacology*, 71, 1570 -1580.
- Capek P., Hribalová V., Švandová E., Ebringerová A., Sasinková V. et Masarová J. (2003).** Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 33, 113 - 119.
- Capek P. et Hribalová V. (2004).** Water-soluble polysaccharides from *Salvia officinalis* L. possessing immunomodulatory activity. *Phytochemistry*, 65, 1983 - 1992.
- Carvalho R. N., Moura L. S., Rosa P. T. V. et Meireles M. A. A. (2005).** Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *Journal of Supercritical Fluids*, 35, 197 - 204.
- Cazzavaca R., Lanzetta D. et Leo D. V. (1999).** Treatment of neurovegetative menopausal symptoms with a phytotherapeutic agent. *Minerva Ginecologica*, 50, 5, 207 - 112.
- Celiktas O. Y., Kocabas E. E. H., Bedir E., Sukan F. V., Ozek T. et Baser K. H. C. (2006a).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100, 2, 553 - 559.
- Celiktas O. Y., Bedir E. et Sukan F. V. (2006b).** *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry*, 5496, 1 -17
- Charlton A. J., Baxter N. J., Lilley T. H., Haslam E., McDonal C. J. et Williamson M. P. (1996).** Tannin interactions with a full-length human salivary proline-rich protein display a stronger affinity than with single proline-rich repeats. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 382, 289 - 292.
- Charlton A. J., Haslam E. et Williamson M. P. (2002).** Multiple Conformations of the Proline-Rich Protein/Epigallocatechin Gallate complex determined by Time-Averaged Nuclear Overhauser effects. *Journal of the American Chemists' Society*, 124, 9899 - 9905.
- Cooray H. C., Janvilisri T., Van Veen H. W., Hladky S. B. et Barrant M. A. (2004).** Interaction of the breast cancer resistance protein with plant polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317, 269 - 275.
- Cowan M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 4, 564 - 582.

- de Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., et Vlietinck A. (1999).** Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 445 - 459.
- de Freitas V. et Mateus N. (2001a).** Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49, 940 - 945.
- de Freitas V. et Mateus N. (2001b).** Nephelometric study of salivary protein-tannin aggregates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 113 - 119.
- de Freitas V., Carvalho E. et Mateus N. (2003).** Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81, 503 - 509.
- Delaveau P. (1988).** Polyphénols et tannins dans l'alimentation. In « Cahier Nutrition et Diététique », 23, pp 137 - 139.
- Dias P. C., Foglio M. A., Possenti A. et Carvalho J. E. (2000).** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 69, 57 - 62.
- Djerroumi A. et Nacef M. (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed: Palais du livre, p 28, 83, 91, 126, 131.
- Dülger B., Ceylan M., Alitsaous M. et Ugurlu E. (1999).** Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* L. *Turkish Journal of Biology*, 23, 377 - 384.
- Durling N. E., Catchpole O. J., Grey J. B., Webby R. F., Mitchell K. A., Foo L.Y. et Perry N. B. (2006).** Extraction of Phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 5489, 1 - 30.
- Ebringerova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hribalova V. (2003).** Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74, 52 - 61.
- Eidi M., Eidi A. et Zamanizadeh H. (2005).** Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 310 - 313.
- El bardai S., Morel N., Wibo M., Llabres G., Lyoussi B. et Quetin-Lechercq J. (2003a).** The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium Vulgare*. *Planta Medica*, 69, 75 - 77.
- El bardai S., Wibo M., Hamaide M. C., Quetin-Lechercq L. et Morel N. (2003b).** Characterisation of marrubenol, a diterpene extracted from *Marrubium vulgare*, as an L-type calcium channel blocker. *British Journal of Pharmacology*, 140, 1211 - 1216.
- Feldman K. S., Sambandam A., Lemon S. T., Nicewonger R. B., Long G. S., Battaglia D. F., Ensel S. M. et Laci M. A. (1999).** Binding anities of gallotannin analogs with bovine serum albumin: ramifications for polyphenol-protein molecular recognition. *Phytochemistry*, 51, 867 - 872.

- Frazier R. A., Papadopoulou A., Mueller-Harvey I., Kissoon D. et Green R. J. (2003).** Probing proteintannin interactions by isothermal titration microcalorimetry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, **518**, 5195 - 5189.
- Frazier R. A., Papadopoulou A. et Green R. J. (2006).** Isothermal titration calorimetry study of epicatechin binding to serum albumin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1602 -1605.
- Gambelunght C. et Melai P. (2002).** Absinthe: enjoying a new popularity among young people. *Forensic Science International*, 130, 183 - 186.
- Guendouz N. (2005).** Étude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas : extrait de feuilles de « *Erica arborea* » avec la protéine Sérum Albumine Bovine.69p.
- Gausсен H., Deuroy J. F. et Ozenda P. (1982).** Précis de botanique II. In « les végétaux supérieurs». Ed: MASSON. pp 215 - 408.
- Gilani A. H. et Janbaz K. H. (1995).** Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CCL4- induced hepatotoxicity. *General pharmacology*, 26, 2, 309 - 315.
- Guarrera P. M. (2005).** Traditional phytotherapy in central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium). *Fitoterapia*, 76, 1 - 25.
- Guignard J. L. (2001).** Botanique, Systématique moléculaire. Ed : MASSON. pp 209 - 262.
- Gutiérrez M. E., Garcia A. F., de Madariaga M. A., Sagrista M. L., Casado F. J. et Mora M. (2003).** Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. *Life Sciences*, 72, 2337 - 2360.
- Gutzeit H. O., Henker Y., Kind B. et Franz A. (2004).** Specific interactions of quercetin and other flavonoids with target proteins are revealed by elicited fluorescence. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 318, 490 - 495.
- Hagerman A. E. et Butler L. G. (1978).** Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agricultural and Food Chemistry*, 26, 4, 809 - 812.
- Hagerman A. E. et Butler L. G. (1981).** The specificity of proanthocyanidin-protein interaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 256, 9, 4444 - 4497.
- Hagerman A. E. et Butler L. G. (1989).** Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology*, 15, 6, 1795 - 1810.
- Hagerman A. E., Robbins C. T., Weerasuriya Y., Wilson T. C. et Macarthur C. (1992).** Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45, 1, 57 - 62.
- Haloran K. (2001).** Herbs, garden and gardening illnesses. *Organic Gardening Emmaus*, 48, 1-16.
- Haloui M., Louedec L., Michel J. B. et Lyoussi B. (2000).** Experimental diuretic effects of *Rosemarinus officinalis* et *Centaurium erythraea*. *Journal of Ethnopharmacol*, 71, 3, 465 - 472.

- Hartzfeld P. W., Forkner R., Hunter M. D. et Hagerman A. (2002).** Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1785 - 1790.
- Hatano T., Hori M., Hemingway R. W. et Yoshida T. (2003).** Size exclusion chromatographic analysis of polyphenol-serum albumin complexes. *Phytochemistry*, 63, 817 - 823.
- Herrero M., Arraez-Roman D., Segura A., Kenndler E., Gius B., Raggi M. A., Ibanez E. et Cifuentes A. (2005).** Pressurized liquid extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of polar antioxidants in rosemary extracts. *Journal of Chromatography A*, 1084, 54 - 62.
- Hernandez V., Recio M. C., Manez S., Prieto J. M., Giner R. M. et Ríos J. L. (2001).** A mechanistic approach to the *In vivo* anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, 67, 726 - 731.
- Hernandez V., Manez S., Recio M. C., Giner R. M. et Rios J. L. (2005).** Anti-inflammatory profile of dehydrocostic acid, a novel sesquiterpene acid with a pharmacophoric conjugated diene. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 162 - 169.
- Herrera-Arellano A., Aguilar-Santamarı L., Garcia-Hernandez B., Nicasio-Torres P. et Tortoriello J. (2004).** Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine*, 11, 561 -566.
- Hohmann J., Redei D., Mathea I. et Blunden G. (2003).** Phenylpropanoid glycosides and diterpenoids from *Salvia officinalis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 3, 427 - 429.
- Hopkins W. G. (2003).** *Physiologie végétale*. Ed: DE BOECK, 12, pp 41- 42.
- Huang S. C., Hoc C. T., Lin-Shiaub S. Y. et Lin J. K. (2005).** Carnosol inhibits the invasion of B16/F10 mouse melanoma cells by suppressing metalloproteinase-9 through down-regulating nuclear factor-kappa B and C-Jun. *Biochemical Pharmacology*, 69, 221 - 232.
- Hui-Hui Z., Peng-Fei T., Kan Z., Hui W., Bao-Huai W. et Jing-Fen L. (2001).** Antioxidant properties of phenolic diterpenes from *Rosmarinus officinalis*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22, 12, 1094 - 1098.
- Jöbstl E., O'Connell J., Fairclough J. P. A et Williamson M. P. (2004).** Astringency molecular model for polyphenol/protein binding. *Fibre Diffraction Review*, 12, 66 - 69.
- Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z. et Benlabed K. (2005).** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15, 129 - 133.
- Kamatou G. P. P., Viljoen A. M., Gono-Bwalya A. B., Van Zyl R. L., Vuuren V. S. F., Lourens A. C. U., Baser K. H. C., Demirci B., Lindsey K. L., Staden V. J. et Steenkamp P. (2005).** The *In vitro* pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 382 - 390.

- Kaneda H., Watari. et Takashio M. (2003).** Mesuring astringency of beverages using a Quartz-Crystal Microbalance. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61, **3**, 119 - 124.
- Karioti A., Skaltsa H., Heilmann J. et Stecher O. (2003).** Acylated flavonoid and phenylethanoid glycosides from *Marrubium velutinum*. *Phytochemistry*, 64, 655 - 660.
- Karioti A., Heilmann J. et Skaltsa H. (2005).** Labdane diterpenes from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*. *Phytochemistry*, 66, 1060 - 1066.
- Kennedy D. O. et Scholey A. B. (2005).** Sage and brain function. *Nutrition Abstract and Reviews: Serie A*, 75, **8**, 25 - 31.
- Khalil E.A., Afifi F.U. et Al-Hussaini M. (2007).** Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 104 - 112.
- Khan N. et Sultana S. (2005).** Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperpriliferative response by *Nigella sativa*. *European Journal of Cancer Prevention*, 14, 159 - 168.
- Khatib S., Alkofahi A., Hasan M. et Najib N. (1998).** The cardio vascular effects of *Rosmarinus officinalis* extract on the isolated intact rabbit heart. *Fitoterapia*, 69, **6**, 502- 506.
- Knoss W., Reuter B. et Zapp J. (1997).** Biosynthesis of the labdane diterpene marrubiin in *Marrubium vulgare* via a non-mevalonate pathway. *Journal of Biochemistry*, 326, 449 - 454.
- Ko Y. D., Kim J. H., Adesogan A. T., Ha H. M. et Kim S. C. (2006).** The effect of replacing rice straw with dry wormwood (*Artemisia sp.*) on intake, digestibility, nitrogen balance and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 125, 99 - 110.
- Konishi T., Shimada Y., Nagao T., Okabe H. et Knoshima T. (2002).** Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25, **10**, 1370 - 1372.
- Kordali S., Aslan I., çalmasur O. et Cakir A. (2006).** Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granaries* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 23, 162 - 170.
- Kosaka K. et Yokoi T. (2003).** Carnosic Acid, a component of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26, **11**, 1620 - 1622.
- Kouhila M., Belghit A. et Bouteleb B.C. (2001).** Experimental determination of sorption isotherms of mint, sage and verbena. *Journal of Food Engineering*, 47, 281 - 287.
- Labieniec M., Gabryelak T. (2006).** Interactions of tannic acid and its derivatives (ellagic and gallic acid) with calf thymus DNA and bovine serum albumin using spectroscopic method. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 82, 72 - 78.

- Lachenmeier D. W., Emmert J., Kuballa T. et Sartor G. (2006).** Thujone - Cause of absinthism. *Forensic Science International*, 158, 1 - 8.
- Lapornik B., Prosek M. et Wondra A. L. (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 2, 214 – 222.
- Leclerc H. (1994).** Les antisudoraux. In « le précis de phytothérapie thérapeutique par les plantes Françaises ». Ed : MASSON, 5, pp 90 - 92.
- Lima C.F., Carvalho F., Fernandes E., Bastos M. L., Santos-Gomes P. C., Fernandes-Ferreira M. et Pereira-Wilson C. (2004).** Evaluation of toxic/protective effects of the essential oil of *Salvia officinalis* on freshly isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 18, 457 - 465.
- Lima C. F., Andrade P. B., Seabra R. M., Fernandes-Ferreira M. et Pereira-Wilson C. (2005).** The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 383 - 389.
- Lin H.C., Chen P. C., Cheng T. J. et Chen R. L. C. (2004).** Formation of tannin albumin nanoparticles at neutral pH as measured by light scattering techniques. *Analytical Biochemistry*, 325, 117 - 120.
- Lin Y. L., Wu C. H., Luo M. H., Huang Y. J., Wang C. N., Shiao M. S. et Huang Y. T. (2006).** *In vitro* protective effects of salvianolic acid B on primary hepatocytes and hepatic stellate cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 215 - 222.
- Linden G. et Lorient D. (1994).** Pigments et arômes. In « Biochimie agro-industrielle ; Valorisation de la production agricole ». Ed : MASSON, Paris, pp 338 - 339.
- Liu J. C., Hsu F. L., Tsai J. C., Chan P., Liu J. Y. H., Thomas G. N., Tomlinson B., Lo M. Y. et Lin J. Y. (2003).** Antihypertensive effects of tannins isolated from traditional Chinese herbs as non-specific inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Life Sciences*, 73, 1543 - 1555.
- Longaray-Delamare A. P., Moschen-Pistorello I. T., Atti-Serafini L. A. L. et Echeverrigaray S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*, 100, 603 - 608.
- Lopez P., Huerga M. A., Batlle R. et Nerin C. (2006).** Use of solid phase microextraction in diffusive sampling of the atmosphere generated by different essential oils. *Analytica Chimica Acta*, 559, 97 - 104.
- Louli V., Ragoussis N. et Magoulas K. (2004).** Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. *Bioresources Technology*, 92, 201 - 208.
- Lu Y. et Bennick A. (1998).** Interaction of tannin with human salivary Proline-Rich Proteins. *Archives of Oral Biology*, 43, 717 - 728.
- Lu Y. et Foo L. Y. (2001).** Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75, 197 - 202.
- Lu Y. et Foo L. Y. (2002).** Polyphenolics of *Salvia*. *Phytochemistry Review*, 59, 117 - 140.

- Madhan B., Subramanian V., Rao J. R., Nair B. U. et Ramasami T. (2005).** Stabilization of collagen using plant polyphenol role of catechin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 37, 47 - 53.
- Mahmoud A. A., AL-Shihry S. S. et Son B. W. (2005).** Diterpenoid quinones from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Phytochemistry*, 66, 1685 - 1690.
- Mànez S., Recio M. C., Gil I., Gomez C., Giner R. M., Waterman P. G. et Rios J. L. (1999).** A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *Journal of Natural Products*, 62, 4, 601 - 604.
- Mangena T. et Muyima N. Y. O. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*, 28, 291 - 296.
- Maoz M. et Neeman I. (1998).** Antimicrobial effects of aqueous plant extracts of the fungi *microsporium canis* and *Trichophyton rubrum* on three bacterial species. *Letters in Applied Microbiology*, 26, 61 - 63.
- Maoz M., Kashman Y. et Neeman I. (1999).** Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, 65, 281 - 282.
- Maoz M., Neeman I. (2000).** Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 479 - 482.
- Marin M., Koko V., Duletić-Laušević S., Marin P. D., Rančić D. et Dajic-Stevanovic Z. (2006).** Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology, stereology and histochemistry. *South African Journal of Botany*, 72, 378 - 382.
- Mateus N., Carvalho E., Luis C. et de Freitas V. (2004).** Influence of the tannin structure on the disruption effect of carbohydrates on proteins-tannin aggregates. *Analytica Chimica Acta*, 513, 135 - 140.
- Menaker A., Kravets M., Koel M. et Orav A. (2004).** Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. *Preliminary Communication/Communication*, 7, 629 - 633.
- Meschler J. P. et Howlett A. C. (1999).** Thujone exhibits low affinity for cannabinoid receptors but fails to evoke cannabimimetic responses. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62, 3, 473 - 480.
- Meyre-Silva C., Yunes R. A., Schlemper V., Campos-Buzzi F. et Cechinel-Filho V. (2005).** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *Il Farmaco*, 60, 321 - 326.
- Miladinović D. et Miladinovic L. J. (2000).** Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. *Series: Physics, Chemistry and Technology*, 2, 2, 97 - 100.
- Miliauskas G., Venskutonis P. R. et Van Beek T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231 - 237.

- Michnik A., Michalik K. et Drzazga Z. (2005).** Stability of Bovin Serum Albumin at different pH. *Journal of Thermal Analysis and Colorimetry*, 80, 399 - 406.
- Mohammadi M., Akhoudzadeh S. et Noroozian M. (2003).** *Salvia officinalis* extracts in treatment of patient with mild to moderate Alzheimers disease: a double blind, randomized and placebo controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28, 1, 53 - 59.
- Molina-Salinas G. M., Ramos-Guerra M. C., Vargas-Villarreal J., Mata-Cardenas B. D., Becerril-Montes P. et Said-Fernandez S. (2006).** Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Archives of Medical Research*, 37, 45 - 49.
- Montis B., Catesson A. M., Roland J. C. Barboud F., Joseleau J. P., Tollier M. T. Mercier C., Thibaut J. F. Metche M., de Lestang-Bremond G. et Janin G. (1980).** Les polymères végétaux: polymères pariétaux et alimentaires non azotés. Ed: Gauthier-Villars, p 345.
- Moreira M. R., Ponce A. G., del Valle C. E. et Rour S. I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 38, 565 - 570.
- Moreno-Jiménez E., Gamarra R., Carpena-Ruiz R. O., Millan R., Penalosa J. M. et Esteb E. (2006).** Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almaden area. *Chemosphere*, 63, 1969 - 1973.
- Morinaga N., Iwamaru Y., Yahiro K., Tagashira M., Moss J. et Noda M. (2005).** Differential activities of plant polyphenols on the binding and internalization of cholera toxin in vero cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 280, 24, 23303 - 23309.
- Moussi K. (2005).** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas : extrait de *Lavundula steochas* avec la protéine sérumalbumine bovine. Mémoire de magister, 70p.
- Mouchid K., Dersi N., Bellik A., Aboussaouira T., Rachidai A., Zarrouck K., Tantaoui-Elaraki A. et Alaoui-Ismaili M. (2004a).** Caractérisation chimique et recherche de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, *Eucalyptus globulus* et *Mentha pulegium* du sud marocain. *Biotechnologies, Congrès International de Biochimie, Marrakech*, 525 - 527.
- Mouchid K., Bourjilat F., Dersi N., Bellik A., Aboussaouira T., Rachidai A., Tantaoui-Elaraki A. et Alaoui-Ismaili M. (2004b).** Toxicité de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* du sud du Maroc. Effets antibactériens et histopathologique. *Les Actes de l'Institut Agronomique et Vétérinaire*, 24, 139 - 144.
- Mouchid K., Aboussaouira T., Rachidai A., Alaoui-Ismaili M. et Tantaoui-Elaraki A. (2004c).** Etude des effets histopathologiques chez la souris de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* du sud marocain. *Cahier du Symposium Doctoral National: Biologie, Santé et Environnement*, 1, 135 - 138.
- Mouchid k. (2005).** Cytotoxique des huiles essentielles de trois plantes médicinales aromatiques marocaines: *Rosmarinus officinalis* - *Mentha pulegium* - *Eucalyptus globulus*. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : biochimie. pp 40 - 49.

- Mounchid K., Bourjilat F., Dersi N., Aboussaouira T., Rachidai A., Tantaoui-Elaraki A. et Alaoui-Ismaili M. (2005).** The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Roramarinus officinalis* and *Eucalyptus globulus*. *African Journal of Biotechnology*, **4**, **10**, 1175 - 1176.
- Munné-Bosch S., Schwarz K. et Alegre L. (1999).** Enhanced Formation of  $\alpha$ -Tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Plant Physiology*, **121**, 1047 - 1052.
- Munné-Bosch S. et Alegre L. (2001).** Subcellular compartmentation of the diterpene carnosic acid and its derivatives in the leaves of rosemary. *Plant Physiology*, **125**, 1094 - 1102.
- Munné-Bosch S. et Alegre L. (2003).** Drought-induced changes in the redox state of  $\alpha$ -Tocopherol, Ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiatae species differing in carnosic acid contents1. *Plant Physiology*, **131**, 1816 - 1825.
- Muto T., Watanabe T., Okamora M., Moto M., Kashida Y. et Mitsomori K. (2003).** Thirteen-week repeated dose toxicity study of Wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, **28**, **5**, 471 - 478.
- Naczk M., Oickle D., Pink D. et Shahidi F. (1996).** Protein precipitating capacity of crude canola tannins: effect of pH, tannin, and protein concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 2144 - 2148.
- Naczk M. et Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95 - 111.
- Naczk M., Grant S., Zadernowski R. et Barre E. (2006).** Protein precipitating capacity of phenolics of wild blueberry leaves and fruits. *Food Chemistry*, **96**, 640 - 647.
- Nassu R. T., Gonc L. A. G., Pereira A., de Silva M. A. A. et Beserra F. J. (2003).** Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, **63**, 43 - 49.
- Nifli A. P., Bosson-Kouamec A., Papadopoulou N., Kogia C., Kampa M., Castagninoc C., Stournaras C., Vercauterenc J. et Castanas E. (2005).** Monomeric and oligomeric flavanols are agonists of membrane androgen receptors. *Experimental Cell Research*, **309**, 329 - 339.
- Ninomiya K., Matsuda H., Shimoda H., Nishida N., Kasajima N., Yoshino T., Morikawa T. et Yoshikawa M. (2004).** Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **14**, 1943 - 1946.
- Nitzsche A., Tocalov S.V., Gutzeit H.O. et Ludwig-Muller J. (2004).** Chemical and biological characterization of cinnamic acid derivatives from cell cultures of Lavender (*Lavandula officinalis*) induced by stress and jasmonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, **10**, 2915 - 2923.
- O'Connell J. E. et Fox P. F. (2001).** Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, **11**, **3**, 103 - 120.

- Offord E.A., Mace K., Ruffieux C. et Pfeifer A. M. (1995).** Rosemary components inhibit benzo(a) pyrene induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*, 16, 2057 - 2062.
- Ollila F., Halling K., Vuorela P., Vuorela H. et Slotte P. (2002).** Characterization of flavonoid-biomembrane interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 399, **1**, 103 - 108.
- Oluwatuyi M., Kaatz G.W. et Gibbons S. (2004).** Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, 65, 3249 - 3254.
- Owen P. L. et Johns T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 149 - 160.
- Palese R. et Aexhmann D. (1990).** Labiées: *Rosmarinus*, *Salvia*. In «la grande flore en couleur de Gaston Gounier ». Ed: BELIN, 4, pp 909 - 910.
- Papadopoulou A. et Frazier R. A. (2004).** Characterization of protein-polyphenol interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 186 - 190.
- Papadopoulou A., Green R. J. et Frazier R. A. (2005).** Interaction of flavonoids with Bovine Serum Albumin: A Fluorescence Quenching Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 158 - 163.
- Paris M. et Hurabeille M. (1981).** Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Ed: MASSON, pp 210 - 215.
- Pavela R. (2004).** Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, 75, 745 - 749.
- Pelikan W. (1986).** L'Homme et les plantes médicinales. Ed : Centre Triade, 1, pp 60 - 61.
- Peng Y., Yuan J., Liu F. et Ye J. (2005).** Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39, 431 - 437.
- Pereira R. S., Sumita T. C., Furlan M. R., Jorge A. O. C. et Ueno M. (2004).** Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Revista de Saúde Pública*, 38, **2**, 1 - 3.
- Pereira P., Tysca D., Oliveira P., Bruma S. L. F., Picada J. N. et Ardenghi P. (2005).** Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. *Pharmacological Research*, 52, 199 - 203.
- Perez-Alonso M. J., Velesco-Negueruela A., Duru M. E., Harmandar M. et Vallejo M. C. G. (1996).** Composition of the volatile oil from the aeral parts of *Inula viscosa* L. *Aliton. Flavour and fragrance journal*, 11, 349 - 351.
- Persson E., Graziani G., Ferracane R., Fogliano V. et Skog K. (2003).** Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1587 - 1597.
- Peter K.V. (2004).** Rosemary. In «Handbook of herbs and spices». 2, pp 253 - 265.

- Petersen M. et Simmonds M. S. J. (2003).** Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62, 121 - 125.
- Ponce A. G., del Valle C. E. et Rour S. I. (2004).** Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Food Science and Technology*, 37, 199 - 204.
- Poncet-Légrand C., Edelmann A., Putaux J. L., Cartalade D., Sarni-Manchado P. et Vernhet A. (2006).** Poly (L-proline) interactions with flavan-3-ols units: Influence of the molecular structure and the polyphenol/ protein ratio. *Food Hydrocolloids*, 20, 687 - 697.
- Prigent S. (2005).** Interactions of phenolic compounds with globular proteins and their effects on food-related functional properties. Thèse de doctorat en Agrobiotechnologie, pp 89 - 105.
- Proctor G.B., Pramanik R., Carpenter G. H. et Rees G. D. (2005).** Salivary proteins interact with dietary constituents to modulate tooth staining. *Journal of Dental Research*, 84, 1, 73 - 78.
- Quinlan M. B., Quinlan R. J. et Nolan. M. J. (2002).** Ethnopharmacology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica, West Indies. *Journal of Ethnopharmacology*, 80, 75 - 83.
- Rabbani M., Sajjadi S. E., Jafarian A. et Vaseghi G. (2005).** Anxiolytic effects of *Salvia reuterana* boisson the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 100 - 103.
- Radulescu V., Chiliment S. et Oprea E. (2004).** Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*. *Journal of Chromatography A*, 1027, 121 - 126.
- Ribereau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed: DUNOD, Paris, pp 173 - 201.
- Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. et Ribereau-Gayon P. (1982).** Composés phénoliques. In «Traité d'œnologie, sciences et techniques du vin». Ed: DUNOD, pp 477 - 499.
- Richard T., Vitrac X., Merillon J. M. et Monti J. P. (2005).** Role of peptide primary sequence in polyphenol-protein recognition: An example with neurotensin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1726, 238 - 243.
- Richard T., Lefeuvre D., Descendit A., Quideau S., et Monti J. P. (2006).** Recognition characters in peptide-polyphenol complex formation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760, 951- 958.
- Richheimer S. L., Bernart M. W., King G. A., Kent M. C. et Bailey D. T. (1996).** Antioxidant activity of lipid soluble diterpenes from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 4, 507 - 514.
- Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux. In «Physiologie et biochimie». Ed: Presses polytechniques et universitaires Romandes, pp 318 - 338.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti, M., Manfredini S., Radice M. et Bruni R. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621 - 632.

- Sahpaz S., Garbacki M. et Bailleul F. (2002).** Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 389 - 392.
- Sanchez-Blanco J., Ferrandez T., Navarro A., Bnon S. et Alarcon J. J. (2004).** Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plants during and after transplanting M%. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1133 - 1142.
- Santos-Gomes P.C., Seabra R. M., Andrade P. B. et Fernandes-Ferreira M. (2003).** Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Plant Physiology*, 160, 1025 - 1032.
- Santos-Gomes P. C., Seabra R. M., Andrade P. B. et Fernandes-Ferreira M. (2002).** Phenolic antioxidant compounds produced by *In vitro* shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Science*, 162, 981 - 987.
- Sardans J., Rodà F. et Peñuelas J. (2005).** Effects of water and a nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 1 - 11.
- Schauenberg P. et Paris F. (2005).** Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed: Delachaux et Niestle, pp 204 - 207.
- Schinella G. R., Tournier H. A. et Prieto J. M. (2002).** Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sciences*, 70, 1023 - 1033.
- Shellis R. P., Addy M. et Rees G. D. (2005).** *In vitro* studies on the effect of sodium tripolyphosphate on the interactions of stain and salivary protein with hydroxyapatite. *Journal of Dentistry*, 33, 313 - 332.
- Siebert K. J., Troukhanova N. V. et Lynn P.Y. (1996).** Nature of polyphenol-protein interactions. *Journal of agriculture Food Chemistry*, 44, 80 - 85.
- Siebert K. J. (1999).** Effects of protein-polyphenol interaction on beverage haze, satabilizations and analysis. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 647, 353 - 362.
- Siebert K. J. et Chassy A. W. (2003).** An alternate mechanism for the astringent sensation of acids. *Food Quality and Preference*, 15, 13 - 18.
- Siebert K. J. (2006).** Haze formation in beverages. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 39, 9, 987 - 994.
- Simon C. (2003).** Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. Thèse doctorat en sciences chimiques, 219 p.
- Simon C. et Barathieu B. (2003).** Three-dimentional structure and dynaique of wine tannin-Saliva Protein complexes. *A Multitechnique Approach Biochemistry*, 42, 10385 - 10395.
- Slamenová D., Kuboskova K., Horvathova E. et Robichova S. (2002).** Rosmary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPG-sensitive sites in mammalian cells treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or visible light-excited Methylene Blue. *Cancer Letters*, 177, 145 - 153.

- Sokmen M., Angelova M., Krumova E., Pashova S., Ivancheva S., Sokmen A. et Serkedjieva J. (2005).** *In vitro* antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sciences*, 76, 2981 - 2983.
- Sotelo-Felix J. I., Martinez-Fong D., Muriel P., Santillan R. L., Castillo D. et Yahuaca P. (2002).** Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 81, 145 - 154.
- Stefanovits-Bányai É., Tulok M. H., Hegedűs A., Renner C. et Varga I. S. (2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 111 - 113.
- Stulzer H. K., Tagliari M. P., Zampirolo J. A., Cechinel-Filho V. et Schlemper V. (2006).** Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 108, 379 - 384.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A. et Sokmen A. (2006).** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95, 200 - 204.
- Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2005).** *Plantes aromatiques*. Ed : Technique et Documentation. LAVOISIER, p 416, 444.
- Thorsen M. A. et Hildebrandt K. S. (2003).** Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts aspects of accurate quantification. *Journal of Chromatography A*, 995, 119 - 125.
- Tildesley N. T. J., Kennedy D. O., Perry E. K., Ballard C. G., Salvelev S., Wesnes K. A. et Scholey A. B. (2005a).** *Salvia lavandulaefolia* (Spanish sage) enhances memory in health young volunteers. *Pharmacology, Biochemistry et Behavior*, 75, 669 - 674.
- Tildesley N. T. J., Kennedy D. O., Perry E. K., Ballard C. G., Wesnes K. A. et Scholey A. B. (2005b).** Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of *Salvia lavandulaefolia* essential oil to healthy young volunteers. *Physiology and Behavior*, 83, 699 - 709.
- Troncoso N., Sierra H., Carvajal L., Delpiano P. et Gunther G. (2005).** Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet-visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary. *Journal of Chromatography A*, 1100, 20 - 25.
- Troxler R. F., Offner G. D., Xu T., Vanderspek J. C. et Oppenheim F. G. (1990).** Structural relationship between Human Salivary Histatins. *Journal of Dental Research* January, 69, 1. 2 - 6.
- Urquiaga I. et Leighton F. (2000).** Plant polyphénol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33, 2, 1 - 13.
- Valnet J. (1992).** *Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes*. In « Etude particulière des plantes ». Ed : MALOINE, paris, 6, pp 167- 439.

- Vander-Jagt T. J., Ghattas R., Vander Jagt D. J., Crossey M. et Glew R. H. (2002).** Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. *Life Sciences*, 70, 1035 - 1040.
- Velickovic D.T., Milenovic D. M., Ristic M. S. et Veljkovic V. B. (2006).** Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage. *Ultrasonic Sonochemistry*, 13, 150 - 156.
- Vergé S., Richard T., Moreau S., Nurich A., Merillon J. M., Vercauteren J. et Monti J. P. (2002a).** First observation of solution structures of bradykinin-penta-*o*-galloyl-d-glucopyranose complexes as determined by NMR and simulated annealing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1571, 89 - 101.
- Vergé S., Richard T., Moreau S., Richelme-David S., Vercauteren J., Promed J. C. et Montia J. P. (2002b).** First observation of non-covalent complexes for a tannin-protein interaction model investigated by electrospray ionisation mass spectroscopy. *Tetrahedron Letters Pergamon*, 43, 2363 - 2366.
- Vidal S., Courcoux P., Francis L., Kwiatkowski M., Gawel R., Williams P., Waters E. et Cheyner V. (2004).** Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15, 209 - 217.
- Visanji J. M., Thompson D. G. et Padfield P. J. (2006).** Induction of G2/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Letters*, 237, 130 - 136.
- Volac J., Stodola J. et Severa F. (1983).** La sauge. In «plantes médicinales : 256 illustrations en couleurs ». Ed: GRUND, pp 263 - 264.
- Wake G., Court J., Pickering A., Lewis R., Wilkins R. et Perry E. (2000).** CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. *Journal of Ethnopharmacology*, 69, 105 - 114.
- Wang W., Ben-Daniel B. H. et Cohen Y. (2004).** Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *The American Phytopathological Society*, 94, **10**, 1042 - 1047.
- Wei G. J. et Ho C. T. (2006).** A stable quinone identified in the reaction of carnosol, a major antioxidant in rosemary, with 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Food Chemistry*, 96, 471 - 476.
- Wichtl M. et Anton R. (1999).** *Salvia folium*. In «Traditional, pratique officinale, Science et thérapeutique ». Ed : Technique et Documentation, pp 490 - 499.
- Wroblewski K., Muhandiram R., Chakrabartty A. et Bennick A. (2001).** The molecular interaction of human salivary histatins with polyphenolic compounds. *European Journal of Biochemistry*, 268, 4384 - 4397.
- Yan Q. et Bennick A. (1995).** Identification of histatins as tannin-binding proteins in human saliva. *Biochemical Journal*, 311, 341 - 347.

- Yassaa N. et Williams J. (2005).** Analysis of enantiomeric and non-enantiomeric monoterpenes in plant emissions using portable dynamic air sampling/solid-phase microextraction (PDAS-SPME) and chiral gas chromatography/mass spectrometry. *Atmospheric Environment*, **39**, 4875 - 4884.
- Yoon J. H. et Back S. J. (2005).** Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei Medical Journal*, **46**, **5**, 585 - 596.
- Zayas J. F. (1997).** Functionality of proteins in food. Ed: SPRINGER-VERLAG, pp 6 - 9.
- Zeggwagh N. A., Ouahidi M. L., Lemhadri A. et Eddouks M. (2006).** Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **108**, 223 - 227.
- Zelleg F. (2005).** Etude des interactions poluphénols-protéines. Etude de cas : extrait de *Rubus ulmifolius* avec la protéine sérumalbumine bovine. 76p.

## Références électroniques (date de consultation : 2006)

### Anonyme 1

**a : Plante entière :**

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/23/Koeh-164.jpg/200px-Koeh-164.jpg>

**b: Feuilles :**

<http://www.vasteplant.be/catalog/index.cfm?fuseaction=DETAIL&TREFNAAM=ARABSI>

**c: Fleurs**, <http://www.belladonna.de/images/hauptkatalog/18214.jpg>

### Anonyme 2

**a : Plante entière :** <http://flora.uniud.it/erbario/EIAOL/Erbario/cinulvivx.jpg>

**b : Feuilles ; c : Fleurs ;** [http://crdp.ac.besancon.fr/flore/flore/Asteraceae/photos/dittrichia\\_viscosa\\_nmk\\_25.jpg](http://crdp.ac.besancon.fr/flore/flore/Asteraceae/photos/dittrichia_viscosa_nmk_25.jpg)

### Anonyme 3

**a : Plante entière :** <http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/lindman/573.jpg>

**b : Feuilles :** <http://tncweeds.ucdavis.edu/photos/marvu03.jpg>

**c : Fleurs :** [http://www.fireflyforest.com/flowers/images/white/white\\_41/Marrubium\\_vul\\_200.jpg](http://www.fireflyforest.com/flowers/images/white/white_41/Marrubium_vul_200.jpg)

### Anonyme 4

**a : Plante entière :** <http://www.c-potenz.de/Mittel/Rosmarinus-off.jpg>

**b : Feuilles :** <http://www.mountainvalleygrowers.com/images/rosofficialisspiceislandscluster.jpg>

**c : Fleurs :** <http://www.bilder-server.com/Bilder/MZ/002/mz00181-Rosmarin.jpg>

### Anonyme 5

**a : Plante entière :** <http://www.toildepices.com/index.php?url=/plantes/angio/lamiacee/salvia.php>

**b : Feuilles :** <http://www.goodnessdirect.co.uk/detail/F10841b.jpg>

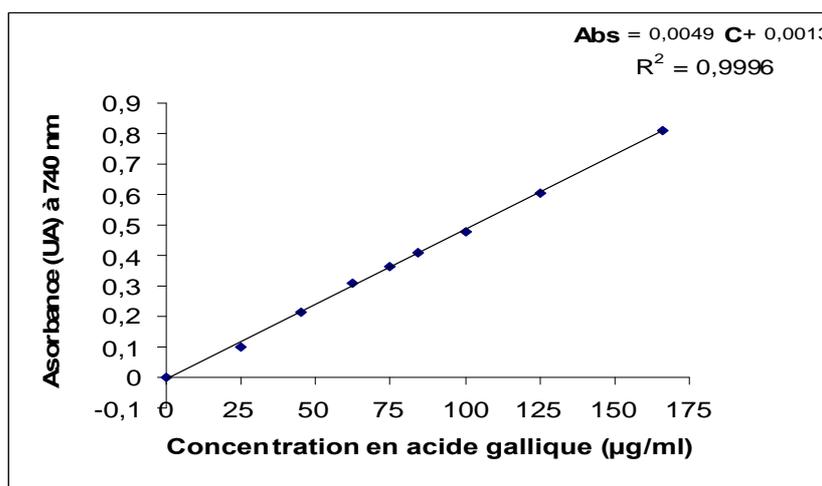
**c : Fleurs :** [http://www.gardenmessenger.net/images/0012060\\_200.jpg](http://www.gardenmessenger.net/images/0012060_200.jpg)

# *Annexes*

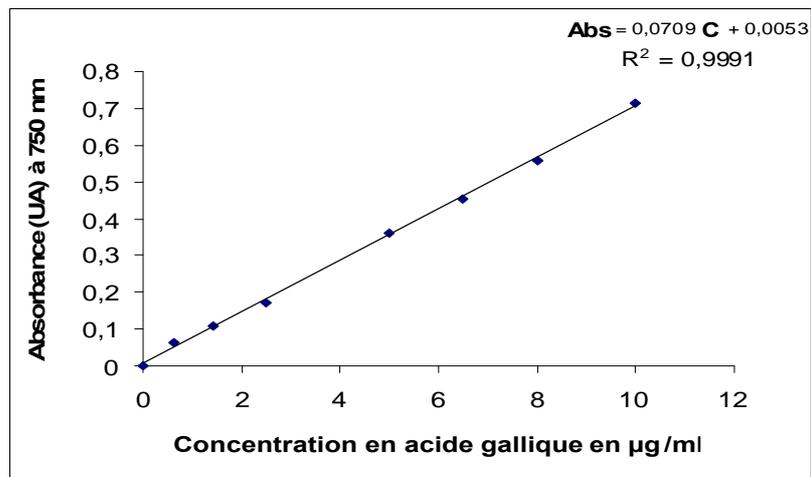
## Annexe 1 : Matériels et réactifs utilisés

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic)</li> <li>- Tamis (RETSCH).</li> <li>- Centrifugeuse (PHYWE).</li> <li>- pH mètre (HANNA pH 210).</li> <li>- Plaque magnétique (PHYWE).</li> <li>- Bain marie (MEMMERT).</li> <li>- Spectrophotomètre UV-VIS (SHIMADZU 1240 MINI) relié à un ordinateur..</li> <li>- Etuve ventilée (BINDER, MEMMERT, BD53)</li> <li>- Balance de précision (BP 310 P).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthanol pur (PROLABO)</li> <li>- Réactif de Folin-Ciocalteu (2 N) (Sigma)</li> <li>- Carbonate de sodium (PROLABO)</li> <li>- Standards polyphénols (Sigma) : acide gallique, acide tannique et quercétine.</li> <li>- Chlorure ferrique <math>\text{FeCl}_3</math> (PROLABO)</li> <li>- <math>\text{AlCl}_3</math> (PROLABO).</li> <li>- <math>\text{NaCl}</math> ; <math>\text{NaOH}</math>, (PROLABO).</li> <li>- <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4</math> (PROLABO)</li> <li>- <math>\text{Na}_2\text{HPO}_4</math> (PROLABO)</li> <li>- TEA (PROLABO)</li> <li>- SDS (PROLABO)</li> <li>- HCl (PROLABO)</li> <li>- Acide acétique glaciale (PROLABO)</li> <li>- Acide citrique (PROLABO)</li> <li>- BSA (FISHER LABOSI)</li> </ul>

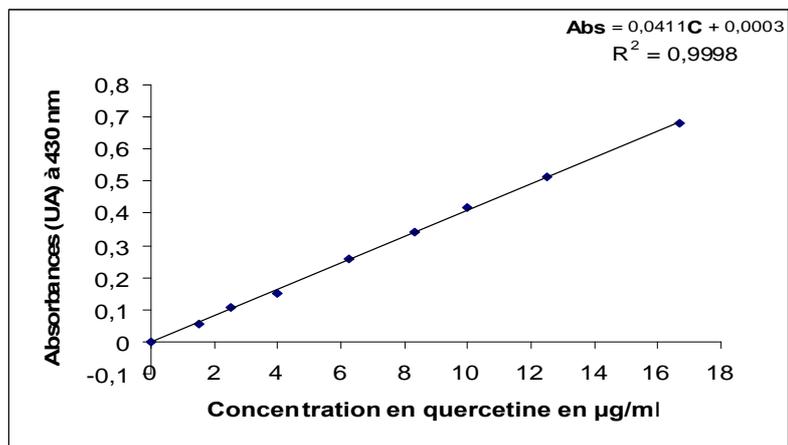
## Annexe 2 : Courbes d'étalonnages



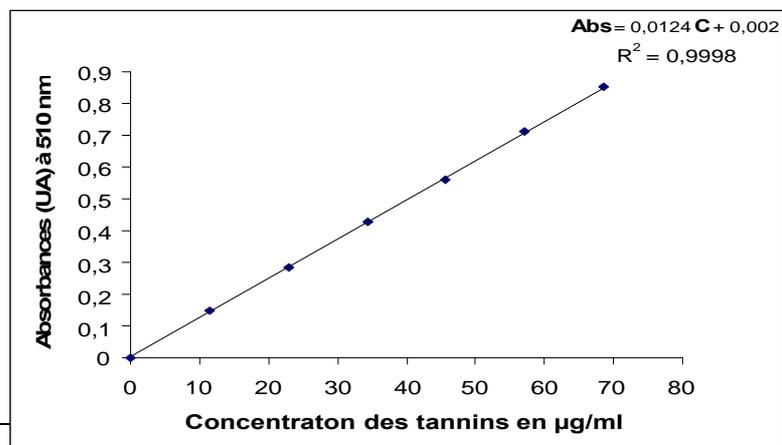
Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux



**Courbe d'étalonnage des polyphénols polaires**



**Courbe d'étalonnage des flavonoïdes**



Solution

Réactif

Conservation

**Courbe d'étalonnage des tannins**

**Annexe 3: Préparation des solutions pour le dosage des tannins et pour l'étude des interactions entre les extraits polyphénoliques et la BSA**

<b>Tampon A (tampon acétate)</b>	- 11,4 mL d'acide acétique glacial (0,2 M) - 9,86 g de NaCl / 800 mL d'eau distillée (0,17 M) - pH ajusté à 4,9 avec NaOH	Température ambiante
<b>SDS/TEA</b>	- 1% de SDS - 5% de triéthanolamine - 1 L d'eau distillée	Température ambiante
<b>Tampon P</b>	- 0,005 g Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /50 mL d'eau distillée - 0,0115g Na <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub> /50 mL d'eau distillée - pH ajusté à 6,9.	4 °C
<b>Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)</b>	- 0,83 mL de HCl concentré/ 1L d'eau distillée. - 1,62 g de FeCl <sub>3</sub> (10 mM) dans la solution d'HCl préparée.	Température ambiante
<b>Solution de BSA (dosage des tannins)</b>	- 1 g /1 L de tampon A	4°C
<b>Solution de BSA (interaction)</b>	- 1g /1 L de tampon P	
<b>Tampon d'acide citrique (étude de l'effet de pH)</b>	- 71,628g Na <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub> / 1L d'eau distillée (0,2 M) - 19,213 g d'acide citrique /1L d'eau distillée - on mélange les deux solutions pour avoir le pH désiré qui varie de 3 à 8.	Température ambiante

**Annexe 4 : Résultats du test d'humidité**

Les plantes utilisées	Taux moyen d'humidité (%) (m/m)	Taux moyen de matière sèche (%) (m/m)	Temps de séchage (jours)
<i>Artemisia absinthium</i>	77,03 ± 1,55	22,97 ± 1,55	11
<i>Inula viscosa</i>	84,10 ± 1,65	15,90 ± 1,65	14
<i>Marrubium vulgare</i>	81,79 ± 1,28	18,21 ± 1,28	12
<i>Rosmarinis officinalis</i>	63,00 ± 2,50	37,00 ± 2,50	10
<i>Salvia officinalis</i>	64,50 ± 1,50	35,50 ± 1,50	10

**Annexe 5 : Résultats du dosage de différentes classes de composés phénoliques**

Les plantes utilisées	<i>Artemisia absinthium</i>	<i>Inula viscosa</i>	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinis officinalis</i>	<i>Salvia officinalis</i>
<b>Plyphénols totaux</b> mg EAG/g de MS et en % (m/m) d'extrait sec	74,248 ± 0,411 <sup>c</sup>	340,067 ± 17,385 <sup>a</sup>	95,815 ± 1,858 <sup>c</sup>	350,950 ± 14,052 <sup>a</sup>	277,822 ± 28,680 <sup>b</sup>
	<b>7,42 %</b>	<b>34,00 %</b>	<b>9,58 %</b>	<b>35,09 %</b>	<b>27,78 %</b>
<b>Plyphénols polaires</b> en mg EAG/g de MS et en % (m/m) de polyphénols totaux	31,073 ± 4,117 <sup>d</sup>	109,136 ± 6,670 <sup>b</sup>	23,656 ± 2,465 <sup>d</sup>	96,896 ± 2,975 <sup>c</sup>	120,680 ± 2,662 <sup>a</sup>
	<b>3,11 %</b>	<b>10,91 %</b>	<b>2,36 %</b>	<b>9,69 %</b>	<b>12,07 %</b>
<b>Plyphénols apolaires</b> en mg EAG/g de MS et en % (m/m) de polyphénols totaux	43,178 ± 3,706 <sup>c</sup>	230,927 ± 10,715 <sup>a</sup>	72,158 ± 0,607 <sup>c</sup>	254,06 ± 11,077 <sup>a</sup>	157,142 ± 26,018 <sup>b</sup>
	<b>4,32 %</b>	<b>23,09 %</b>	<b>7,22 %</b>	<b>25,41 %</b>	<b>15,71 %</b>
<b>Flavonoïdes totaux</b> en mg EQ/g de MS et en % (m/m) de polyphénols totaux	37,797 ± 0,620 <sup>b</sup>	26,668 ± 0,738 <sup>c</sup>	17,021 ± 0,166 <sup>c</sup>	22,860 ± 0,056 <sup>d</sup>	43,975 ± 0,457 <sup>a</sup>
	<b>3,78 %</b>	<b>2,67 %</b>	<b>1,70 %</b>	<b>2,29 %</b>	<b>4,39 %</b>
<b>Tannins</b> en mg EAT/g de MS et en % (m/m) de polyphénols totaux	<b>ND</b>	2,930 ± 0,073 <sup>a</sup>	<b>ND</b>	0,338 ± 0,100 <sup>b</sup>	0,282 ± 0,053 <sup>b</sup>
		<b>0,293 %</b>		<b>0,034 %</b>	<b>0,028 %</b>

MS : matière sèche

ND : non détecté

**Annexe 6 : Différents composés identifiés dans l'extrait méthanolique du romarin**

Absorbance (nm)	Composé identifié
255, 274, 347	6- Hydroxylutéoline-7-glucoside
270, 340	Homoplantagenine
290, 330	Acide rosmarinique
273, 334	Scutallarein
272, 340	4'-5-7-8-tetrahydroxyflavone
216, 278, 336	Cirsimaritine
287	Rosmanol
230, 289	Epirosmanol
287	Epiisorosmanol
270, 338	Genkwanin
230, 289	Epirosmanol methyl ether
287	Carnosol
235, 289	Rosmadial

# *Glossaire*

## ❖ Les termes botaniques utilisés

**Aisselle** : Intérieur de l'angle aigu formé par une feuille insérée sur la tige

**Akène** : Fruit sec, indéhiscent (ne s'ouvrant pas spontanément à maturité), généralement petit, dont la capsule contient une graine unique non soudée avec le péricarpe

**Alternées** : Feuilles attachées à différents points sur la tige, sans vis-à-vis

**Androcée** : L'androcée est la partie mâle de la fleur, c'est-à-dire l'ensemble des étamines

**Angiospermes** : végétal phanérogame dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et dont les graines fécondées sont enfermées dans un fruit. Plante à fleur

**Arbuste** : Il désigne une plante ligneuse d'une taille inférieure à 7 m à tige bien individualisée et à tronc marqué. Le terme arbuste est souvent considéré comme un synonyme d'**arbrisseau** (atteint 3 ou 4 m), mais il s'en distingue par la présence d'un tronc bien diversifié. Lorsqu'on a affaire à une plante ligneuse d'une taille inférieure à 50 cm, souvent rampante, on parle de **sous-arbrisseau**

**Bilabié** : se dit d'un calice ou d'une corolle dont les éléments forment deux lèvres

**Bractée** : petite feuille ou feuille protectrice modifiée, parfois écailleuse ou membraneuse, située au niveau d'une inflorescence (groupe de fleurs), à l'aisselle de la tige où s'insère le pétiole de la feuille ou le pédoncule de la fleur. Elle se distingue de la feuille par sa forme, sa taille ou son coloris

**Calice** : En botanique, le calice est constitué par l'ensemble des sépales. Premier verticille floral, il a un rôle protecteur de la fleur

**Campanulé** : plante dont la fleur a une forme de cloche

**Capitule** : Inflorescence formée de fleurs sessiles serrées les unes contre les autres

**Composée** : Feuille à plusieurs limbes appelés folioles

**Coriace** : Présentant la consistance du cuir

**Corolle** : Ensemble des pétales d'une fleur, généralement colorés

**Crénelé, denté ou dentelé**: Qualifie une feuille, un sépale ou un pétale, dont le bord du limbe est muni de dents à angles aigus

**Division** : Méthode de multiplication végétative des plantes vivaces consistant à diviser, par exemple, les bulbes ou les rhizomes, ou bien à partager les touffes enracinées pour les replanter séparément. Egalement, division du règne, synonyme de "Phylum"

**Dicotylédones** : Groupe des plantes à fleurs ayant des graines constituées de 2 cotylédons

**Étamines** : L'un des organes sexuels mâles de la fleur. L'étamine se compose d'une partie allongée, le filet et d'une partie supérieure renflée, l'anthère, qui contient le pollen

**Frutescentes** : Frutescent est l'adjectif correspondant à arbrisseau

**Glomérule** : Petite inflorescence dense formée par le groupement de nombreuses fleurs sessiles groupées en tête. Il s'agit en général d'inflorescences dont les rameaux sont très courts, souvent dérivées de cymes. De loin, elles ressemblent grossièrement à des capitules

**Grappe** : La **grappe**, ou **racème**, est une inflorescence simple, c'est-à-dire un ensemble de fleurs disposées selon un certain ordre sur un axe commun. La floraison commence par les fleurs de la base et se poursuit vers le sommet donnant à la grappe la forme caractéristique d'une pyramide

**Lancéolé** : Se dit d'une feuille en forme de fer de lance ou de pointe de flèche, étroit, pointu, plus large au milieu, mais régulièrement effilé vers chaque extrémité

**Linné (L.)** : Nom propre, le botaniste suédois **Karl von Linné** (1707-1778) est à l'origine de la classification binomiale des espèces. C'est un adepte de la théorie du fixisme, les animaux et les végétaux ayant été créés, pour lui, lors de la Genèse

**Lobe** : Partie de la feuille dont l'échancrure n'atteint pas la nervure et ne forme pas une foliole.

**Macule** : Est une lésion cutanée sous forme d'une tache de couleur, de taille et de localisation variables

**Mellifère** : Qualifie une fleur dont la floraison est utilisée par les abeilles pour produire du miel

**Nervure** : Ensemble des vaisseaux conducteurs de la sève formant un réseau à la surface d'une feuille. La principale nervure de la feuille, généralement plus épaisse que les autres, est appelée *nervure médiane*

**Opposé** : Se dit d'organes (feuilles par exemple) placés par paire sur un axe ou une tige, se faisant face à la même hauteur

**Persistant** : Se dit d'un organe, notamment les feuilles, qui reste en place à chaque saison (feuilles persistantes du chêne-vert)

**Pétiole** : Prolongation étroite de la tige portant la feuille ou les folioles. Le pétiole peut être présent (feuille pétiolée), absent (feuille sessile)

**Plante ligneuse** : Plante dont la tige a la consistance du bois, grâce à la lignine qu'elle contient

**Sessile** : Qualifie un organe, une feuille, une fleur ou un fruit, inséré directement sur son support, naissant directement sur la tige ou sur la branche

**Simple** : Qualifie une feuille, soit non découpée jusqu'à plus de la moitié de la largeur de la feuille, soit seulement bordée de dents ou même sans dents sur les bords

**Spermaphytes** ou **spermatophytes** : sont les plantes qui produisent des graines

**Tomenteuse** : Qualifie une plante ou une partie de plante recouverte de poils épais, courts et mous

**Tubercule** : Un tubercule est un organe de réserve, généralement souterrain, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver et souvent leur multiplication par voie végétative. Ces organes sont renflés par l'accumulation de substances de réserve. On dit qu'ils sont tubérisés

**Velu** : Couvert de poils fins, courts et épais, doux au toucher comme le velours (Pêche)

**Vivace** : Qualifie une plante vivant plusieurs années, deux ans au moins

❖ **Les termes médicaux utilisés**

**Abortif** : Qui interrompt une grossesse

**Analgésique ou apaisant** : Qui atténue ou supprime la sensibilité à la douleur

**Anthelminthique ou Vermifuge** : Qui détruit ou expulse les vers intestinaux

**Antidote** : Contrepoison

**Anti-gonadotrophine** : Agit sur les glandes sexuelles.

**Anti-inflammatoire** : Qui atténue les tuméfactions et les rougeurs provoquées par agression traumatique, chimique ou microbienne

**Anti-mutagène** : Agit sur les substances qui provoquent des mutations

**Antioxydant** : Qui ralentit / empêche un processus d'oxydation

**Antiphlogistique** : Qui combat l'inflammation

**Antipyrétique** : Qui combat la fièvre

**Antispasmodique ou spasmolytique** : Qui réduit les contractions musculaires, les crampes, qui calme le système nerveux

**Antitumorales** : Qui combat une tumeur

**Apéritif** : Qui stimule l'appétit

**Artériosclérose** : Etat pathologique lié à un épaissement de la tunique interne et un durcissement progressif des artères

**Astringent** : Qui resserre les tissus et ralenti les sécrétions

**Balsamique** : Qualifie une substance qui a la propriété du baume et qui agit contre l'irritation de la gorge

**Carminatif** : Qui résorbe les gaz intestinaux

**Cataplasme** : Médicaments à usage externe obtenu soit en dissolvant une farine dans un liquide, soit en appliquant un végétal entier, soit en écrasant un végétal pour obtenir la consistance d'une pâte fluide

**Cholagogue ou Cholérétique** : Qui active l'excrétion biliaire, qui favorise l'évacuation de la bile de la vésicule

**Convalescence** : Période de transition entre la fin d'une maladie et la guérison

**Convulsion** : Contractions involontaires et violentes de muscles (spasme), dont l'origine se situe dans le cerveau (lésions, fièvres, etc.)

**Dépuratif** : Qui purifie l'organisme, qui élimine les toxines

**Diurétique** : Qualifie une substance qui facilite la sécrétion urinaire

**Emménagogue** : Qualifie une substance qui provoque la menstruation

**Expectorant** : Qui calme la toux, favorise l'expulsion des sécrétions bronchiques

**Fébrifuge** : Qualifie une substance qui fait tomber la fièvre

**Fluidifiant** : Rend les sécrétions bronchiques plus liquides

**Gastrite** : Inflammation de l'estomac

**Hémostatique** : Qui arrête les saignements

**Hépatite virale** : Hépatite infectieuse et contagieuse due à un virus

**Hépatobiliaire** : Relatif au foie et aux voies biliaires.

**Infiltration** : Accumulation anormale de liquide ou de cellules dans un tissu

**Inflammation** : Ensemble des signes et symptômes secondaires à une infection

**Nécrose** : La mort des cellules programmée

**Oestrogéniques** : Hormone stimulant les organes sexuels féminins (utérus et glandes mammaires essentiellement).

**Stimulant** : Qui accroît l'activité fonctionnelle (physique, biologique...), qui augmente l'ardeur

**Sudorifique** : Qui active la transpiration

**Systolique** : Relatif à la systole contraction du coeur, se faisant séparément mais de façon isochrone pour chacune des cavités

**Tonique** : Qui fortifie et stimule les forces de l'organisme

**Vasodilatateur** : Qui dilate les vaisseaux sanguins

## Résumé

Cinq plantes ont été choisies ; *Artemisia absinthium*, *Inula viscosa*, *Marrubium vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, et *Salvia officinalis*, afin de quantifier les principaux groupes de composés phénoliques, et de tester leur caractère réactionnel avec la BSA. Les rendements en extrait sec, varient entre 33,25 (*A. absinthium*) et 43,50 % (*M. vulgare*). Le dosage spectrophotométrique a révélé des teneurs allant de 74,24 (*A. absinthium*) à 350,95 mg/g (*R. officinalis*) de polyphénols totaux, de 23,66 (*M. vulgare*) à 120,68 mg/g (*S. officinalis*), de polyphénols polaires. Tandis que les polyphénols apolaires présentent des quantités supérieures aux polyphénols polaires, chez toutes les espèces. Les teneurs en flavonoides varient de 17,02 (*M. vulgare*) à 43,97 mg/g (*S. officinalis*). Cependant les tannins ont été détectés chez *S. officinalis*, *R. officinalis* et *I. viscosa*, avec des quantités de 0,28 ; 0,34 ; et 2,93 mg/g respectivement. En revanche, la formation du complexe polyphénol-BSA est fortement influencée par la concentration en extrait de plantes et par la concentration du BSA, ainsi que par la concentration en NaCl et par la variation du pH. Néanmoins, l'effet de la température est négligeable sauf pour *I. viscosa*, pour laquelle une augmentation de la densité optique a été enregistrée aux températures supérieures à 35°C.

**Mots clés :** *Artemisia absinthium*, *Inula viscosa*, *Marrubium vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, polyphénols, Tannins, BSA, interactions polyphénols-protéines.

## Abstract

Five plants have been chosen: *Artemisia absinthium*, *Inula viscosa*, *Marrubium vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, and *Salvia officinalis*, in order to quantify the main groups of phenolic compounds, and to test their reactional character with a protein BSA. The outputs in dry extract, vary between 33.25 (*A. absinthium*) and 43.50 % (*M. vulgare*). The spectrophotometric dosage revealed that the quantities vary between 74.24 (*A. absinthium*) and 350.95 mg/g (*R. officinalis*) about total phenolics, between 23.66 (*M. vulgare*) and 120.68 mg/g (*S. officinalis*), about polar phenolics. While the apolar phenolics represent the quantities superior to the polar phenolics, for all species. The amount of flavonoides vary between 17.02 (*M. vulgare*) and 43.97 mg/g (*S. officinalis*). However the tannins have been detected at *S. officinalis*, *R. officinalis* and *I. viscosa*, with quantities of 0.285, 0.34, and 2.93 mg/g respectively. On the other hand, the formation of the complex polyphenol-SAB is influenced strongly by the concentration in extracts of plants, and by the concentration of the BSA as well as by the concentration in NaCl and by the variation of the pH. Nevertheless, the effect of the temperature is insignificant but not for *I. viscosa*, for which an increase of the optical density has been recorded to the temperatures superior to 35°C.

**Keywords:** *Artemisia absinthium*, *Inula viscosa*, *Marrubium vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, polyphenols, tannins, BSA, polyphenol-protein interaction.

## المخلص

هذا العمل يدخل في إطار البحث في الأعشاب الطبية المحلية. خمسة أنواع اختيرت؛ إيشيبيا، مقرمان، مربوة، إكليل و سواك النبي. لغرض إيجاد مجموعة العناصر الفينولية الهامة، و اختبار خاصيتها التفاعلية مع بروتين مصّل بقري. مردود خلاصة المادة اليابسة يتراوح ما بين 33,25 (إيشيبيا) و 43,50 بالمائة (مربوة). نتائج هذه الدراسة بينت وجود كميات من الفينولات الكلية التي تتراوح ما بين 74,24 (إيشيبيا) و 350,95 مغ/غ (إكليل)، و الفينولات المحبة للماء، النسبة تتراوح ما بين 23,66 (مربوة) و 120,68 مغ/غ (سواك النبي). أما فيما يخص الفينولات الكارهة للماء فهي تمثل نسبة أكبر من الفينولات المحبة للماء و ذلك بالنسبة لكل الأنواع. الفينولات البسيطة (الغلافونويد) فالنسبة تتراوح ما بين 17,02 (مربوة) و 43,97 مغ/غ (سواك النبي). أما الفينولات المعقدة فوجودها ينحصر في الأنواع التالية: سواك النبي، إكليل وإيشيبيا، أين نسبتها تتراوح ما بين 0,28 ؛ 0,34 و 2,09 بالترتيب. كذلك هذه الدراسة بينت أن تشكل المركب بين المكونات الفينولية لهذه النباتات و بروتين المصل البقري قد يتأثر بتغير عامل من العوامل التي تتحكم في الوسط التفاعلي. منها نجد تأثيره بتراكيز المستخلص النباتي، بروتين المصل البقري، بالأملاح و بتغير حمض الوسط التفاعلي و كذلك في تغير درجة الحرارة. إلا أن هذه الأخيرة، تأثيرها ضعيف جدا على الأعشاب الطبية السالفة الذكر ماعدا على مقرمان أين نجد ارتفاع في الكثافة الضوئية مع

ارتفاع درجة الحرارة ابتداء من 35 درجة مئوية

**مفتاح الكلمات :** إيشيبيا، مقرمان، مربوة، إكليل، سواك النبي، الفينولات، الفينولات المعقدة، بروتين المصل البقري ،

تجا ذب الفينولات و البروتينات