

*Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département des sciences alimentaires*

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat En Contrôle de Qualité et Analyse.

Thème

*Etude comparative de l'activité antioxydante de cinq
plantes médicinales*



Présenté par :

M^{elle} : ATTABI Baya

M^{elle} : BOUZEKRI Hassina

Membres du jury :

Présidente: M^{me} MAOUCHE-N

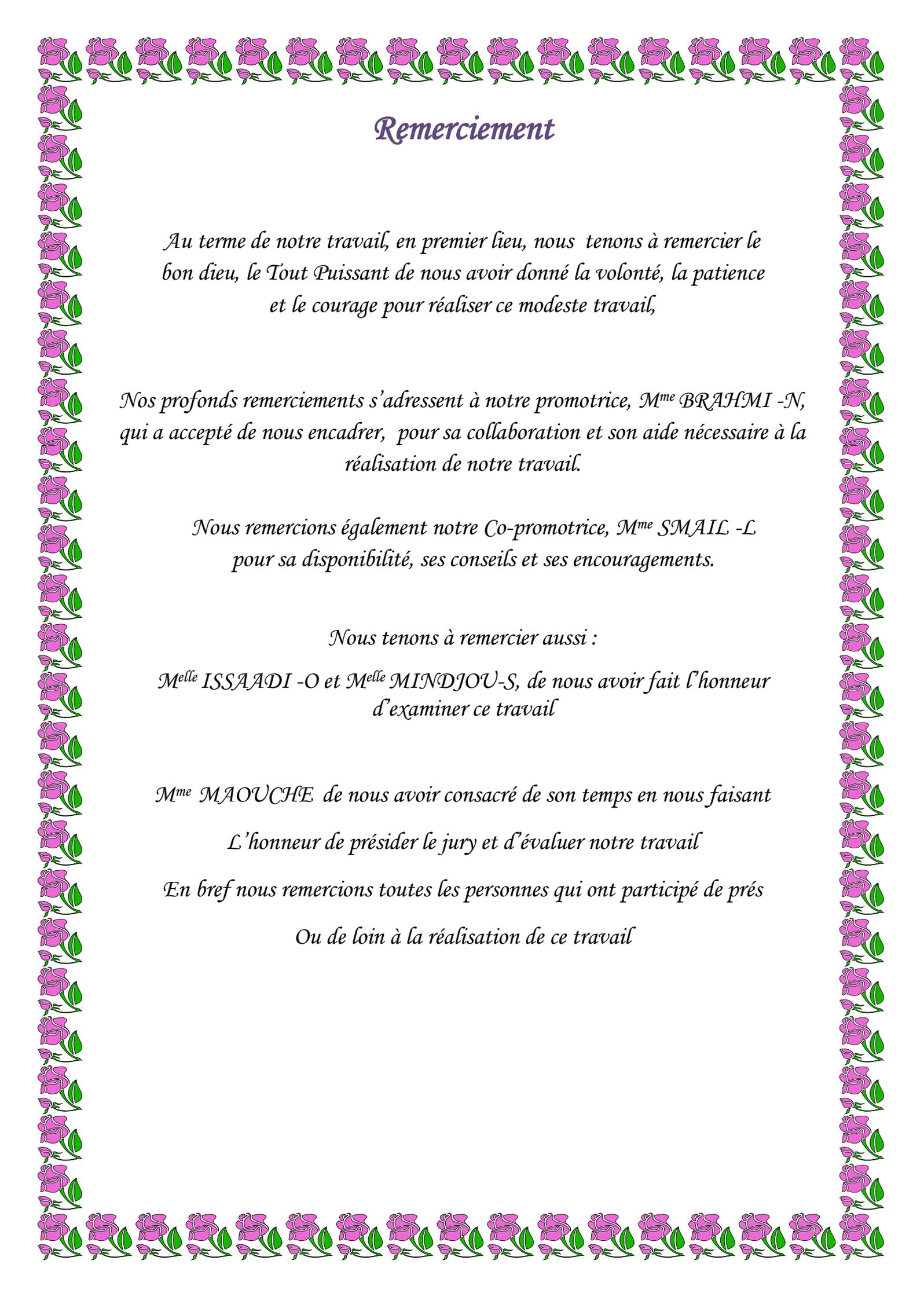
Promotrice : M^{me} BRAHMI -N

Co-Promotrice: M^{me} SMAIL -L

Examinatrice : M^{elle} ISSAADI-O

Examinatrice : M^{elle} MINDJOU-S

Année universitaire 2012-2013



Remerciement

Au terme de notre travail, en premier lieu, nous tenons à remercier le bon dieu, le Tout Puissant de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce modeste travail,

Nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice, M^{me} BRAHMI -N, qui a accepté de nous encadrer, pour sa collaboration et son aide nécessaire à la réalisation de notre travail.

Nous remercions également notre Co-promotrice, M^{me} SMAIL -L pour sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements.

Nous tenons à remercier aussi :

M^{elle} ISSAADI -O et M^{elle} MINDJOU-S, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail

M^{me} MAOUCHE de nous avoir consacré de son temps en nous faisant l'honneur de présider le jury et d'évaluer notre travail

En bref nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près Ou de loin à la réalisation de ce travail



Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail:

A mes chers parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études

A ma petite adorable sœur Sonia, à qui je souhaite d'avoir son Bac avec mention très bien.

A ma chère sœur Nacera

A Ninouche, son mari Lakhdar et ses deux enfants mokrane et mahdi

A mes deux frères Yacine et Amar

A nana louiza et nana Zahia

A ma meilleure amie Lilia qui me manque énormément

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies avec lesquelles j'ai passé des moments agréables, en particulier, Souad, Asma, Taous, Sonia, Saida, Lahna, Nabila, Safia, Zina, Karima

A mes copines de chambre

A tous mes cousins et cousines en particulier Salima et Nassima

A mes tantes en particulier Kafya, Noria et Lila

A ma binôme Hassina

A toute la promotion CQA 2012/2013

BAYA



Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail:

A la mémoire de mon père, que dieu l'accueille en son vaste paradis.

*A ma chère mère qui a toujours été là pour moi Que dieu te protège, une
langue vie inchalah.*

*A mes chères frères Anis, Fouad et sa femme souhila et son enfant
Ayoub.*

*Ames chères sœurs Samira, Nadia et son mari khmissi et son enfant
Bilal.*

A nana Fatma Que dieu la protège, une langue vie inchalah.

Mes très chères tantes

A mes chers oncles

A mes cousins et cousines

A ma sœur et meilleure amie Souad et sa famille.

*J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies avec lesquelles j'ai passé des
moments agréables, en particulier, Sadika, Hassiba, Nassima, Zahra,
Ilham, Siham, koka*

A ma binôme Baya

A toute la promotion CQA 2012/2013

Hassina

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique

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

EAG: Equivalent acide gallique

EAT: équivalent d'acide tannique

EQ : Equivalents quercetine

HPLC : Hight Performance liquide Chromothography (Chromatographie liquide à haute performance).

MS : Matière sèche

O₂ : Oxygène moléculaire

O₂^{•-} : Radical superoxyde

OH[•] : Radical hydroxyle: Radical hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

R[•] : Radical lipidique

RO[•] : Radical alkoxy

ROO[•] : Radical peroxyde

ROOH: Hydro peroxyde

ROS: Reactive oxygen species

SDS : Sulfate Dodecyl de Sodium

SOD: super oxyde dismutase

TCA : Trichloracétique

UV -Vis : Ultraviolet visible

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Structure de base des flavonoïdes.	16
Figure 2	Structure de la quercétine.	17
Figure 3	Structure de l'apigénine.	17
Figure 4	Structure de la catéchine.	17
Figure 5	Structure de la génistéine.	18
Figure 6	Structure de la cyanidine.	18
Figure 7	Structures chimiques de quelques caroténoïdes.	19
Figure 8	Exemple d'un tanin condensé et d'un tanin hydrolysable.	20
Figure 9	Structure chimique de la vitamine C.	20
Figure 10	Photos montrant les cinq plantes étudiées	22

Figure 11	Protocole d'extraction des composés phénoliques.	24
Figure 12	Protocole de dosage des tannins.	28
Figure 13	Pourcentage d'humidité et de matière sèche des feuilles de plantes étudiées.	34
Figure 14	Taux d'extraction des échantillons étudiés.	35
Figure 15	Teneur en polyphénols totaux des extraits.	36
Figure 16	Teneur en flavonoïdes des extraits.	37
Figure 17	Teneur en flavonols des extraits étudiés.	38
Figure 18	Teneurs en tannins des extraits.	39
Figure 19	Teneur en anthocyanines des extraits.	40
Figure 20	Teneur en caroténoïdes des extraits de plantes.	41
Figure 21	Concentration du pouvoir réducteur des échantillons étudiés.	42
Figure 22	Pouvoir réducteur par la réduction de la ferrozine des extraits étudiés.	43
Figure 23	L'activité antioxydante totale (phosphomoybdate) des extraits étudiés.	43
Figure 24	Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits étudiés.	44

Figure 25	Activité « scavenger » sur le peroxyde d'hydrogène des extraits étudiés.	45
------------------	--	----

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Les principales sources des radicaux libres	16

Les termes médicaux

Antalgique : substances destinés à lutter contre la douleur, en agissant sur le Système nerveux.

Anti-inflammatoire : qui combat l'inflammation.

Antioxydant : substances s'opposant aux effets de l'oxydation.

Antiseptique : détruisant les germes.

Antispasmodique : qui combat les contractions, crampes et convulsions.

Antitumorales : contre les tumeurs.

Anti-ulcéreuse : contre l'ulcère.

Aromatique : plante d'odeur agréable, généralement du a une essence.

Arythmie: variation anarchique et anormale du rythme cardiaque

Asthme : maladie allergique ou chronique, caractérisée par une gêne respiratoire temporaire mais intense, accompagnée de toux et de sifflements.

Astringent : qui resserre et raffermi les tissus.

Bronchectasies : dilatation pathologique des bronches.

Broncho spasmolytique : dilatation des bronches provoquée pour faciliter la respiration en cas d'infection des voies respiratoires supérieures.

Cancer : maladie caractérisée par la prolifération anarchique de cellules malignes qui essaient et détruisent de proche en proche les tissus sains.

Carminatif : qui facilite l'expulsion des gaz hors de l'intestin.

Diabète : maladie métabolique due à une carence ou à un défaut d'utilisation de l'insuline dont les principaux symptômes sont une soif et une élimination excessive d'urines.

Dioïque : Les fleurs mâles est femelles se trouve sur des axes différentes.

Eczémas : est une maladie de la peau d'origine allergique, elle se manifeste par des zones rouges surmonté d'une vésicule.

Goutte: maladie métabolique due à une hausse d'acide urique dans le sang, provoquant notamment des douleurs aux articulations.

Hypertension artérielle : pression artérielle anormalement élevée.

Infarctus : destruction d'une partie du muscle cardiaque due à l'obstruction d'un Vaisseau sanguin du cœur.

Maladie d'Alzheimer : maladie neurologique dégénérative, caractérisée par une

atrophie diffuse du cortex cérébral provoquant une démence progressive.

Migraine : est un mal de tête.

Monoïque : Les fleurs mâles et femelles se trouvent sur le même axe

Œdème : infiltration sérieuse de divers tissus, qui se révèle par un gonflement indolore et sans rougeur au niveau de la peau.

Rhumatisme : affection des articulations ou des muscles, de nature inflammatoire ou dégénérative.

Scavenger : terme anglo-saxon qui signifie piéteur.

Thérapeutique : relatif au traitement des maladies pouvant guérir.

Termes botaniques

Arbuste : petit arbre (en général moins de cinq mètres à l'âge adulte).

Calice : enveloppe extérieure des fleurs.

Corolle : enveloppe des pièces florales connus sous le nom de pétales.

Dicotylédones : plante dont la graine contient une plantule à deux cotylédons.

Epis dense : sorte de grappe dont les fleurs sont sessiles ou subsessiles sur un axe simple.

Inflorescence : ensemble des fleurs groupées autour d'un même axe floral.

Limbe : Partie principale, élargie et étalée de la feuille.

Lobe : découpure large et courbe (des organes végétaux).

Panicule : inflorescence en grappe d'épillets.

Pétiolées : se dit des feuilles qui sont attachées à la tige par une queue.

Vivace : se dit pour une plante qui vit plusieurs années.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Glossaire	
Introduction	1

Partie théorique

Chapitre I: généralités sur les plantes médicinales étudiées

I-Définition des plantes médicinales.....	3
I-1-Le marrube blanc (<i>Marrubium vulgare</i>).....	3
I-1-1-Description botanique.....	3
I-1-2-Répartition géographique.....	3
I-1-3-Noms vernaculaires.....	3
I-1-4-Classification systématique... ..	4
I-1-5-Composition chimique.....	4
I-1-6-Effets thérapeutiques.....	4
I-2-Aloès (<i>Aloe vera L</i>)	5
I-2-1-Description botanique.....	5
I-2-2-Répartition géographique.....	5
I-2-3-Noms vernaculaires.....	5
I-2-4-Classification systématique	6
I-2-5-Composition chimique.....	6
I-2-6-Effets thérapeutique.....	6
I-3-La lavande (<i>Lavandula stoechas L</i>).....	7
I-3-1-Description botanique.....	7
I-3-2-Répartition géographique.....	7

I-3-3-Noms vernaculaires.....	7
I-3-4-Classification systématique	8
I-3-5-Composition chimique	8
I-3-6-Effets thérapeutiques	8
I -4-L’ortie dioïque (<i>Urtica dioica L</i>).....	9
I-4-1-Description botanique.....	9
I-4-2-Répartition géographique.....	9
I-4-3-Noms vernaculaires.....	9
I-4-4-Classification systématique	10
I-4-5-Composition chimique.....	10
I-4-6-Effets thérapeutiques	10
I-5 -La fougère male (<i>Dryopteris filix-mas</i>).....	11
I-5-1-Description botanique.....	11
I-5-2-Répartition géographique.....	11
I-5-3-Noms vernaculaires.....	11
I-5-4-Classification systématique	11
I-5-5-Composition chimique.....	12
I-5-6-Effets thérapeutiques	12

Chapitre II : Stress oxydatif et antioxydants

II-1-Stress oxydatif.....	13
II-1-1-Définition du Stress oxydatif.....	13
II-1-2- Définition des Radicaux libres.....	13
II-1-3-Espèces réactives de l’oxygène.....	13
II-1-3-1-Exemples d’espèces réactives de l’oxygène.....	14
II-1-4-Sources des radicaux libres.....	15
II-2-Antioxydant.....	15

II-2-1- Définition.....	15
II-2-2- Classification	15
II-2-3-Système de défense non enzymatique.....	16

Partie pratique

Matériel et méthodes

1- Echantillonnage.....	22
2-Traitement des échantillons	23
2-1- Nettoyage et Séchage.....	23
2-2-Test d'humidité.....	23
2-3- Broyage, tamisage et conservation.....	23
2-4-L'extraction des antioxydants.....	23
3-Dosage des antioxydants.....	25
3-1-Les poly phénol totaux	25
3-2-Les flavonoïdes.....	26
3-3-Les flavonoles	26
3-4-Les tannins.....	26
3-5-Les anthocyanines	29
3-6-Les caroténoïdes.....	30
4-Détermination de l'activité antioxydante.....	30
4-1-Le pouvoir réducteur	30
4-1-1- Réduction de chlorure ferrique	30
4-1-2-Réduction de la ferrozine.....	31

4-1-3- La réduction de phosphomolybdate d'ammonium	31
5-Détermination du pouvoir anti-radicalaire	32
5-1-Neutralisation du radical DPPH	32
5-2- Neutralisation du peroxyde d'hydrogène(H ₂ O ₂).....	33

Résultats et discussion

I-Traitement des échantillons.....	34
I-1-Teneur en humidité.....	34
I-2-Taux d'extraction.....	35
I-3-Dosage des antioxydants	36
I-3-1-Les polyphénols totaux.....	36
I-3-2-Les flavonoïdes.....	37
I-3-3- Les flavonols	38
I-3-4- Les tannins.....	39
I-3-5- Les anthocyanines	40
I-3-6- Les caroténoïdes	41
I-4-Activité antioxydante.....	42
I-4-1-Pouvoir réducteur	42
I-4-1-1-Réduction de chlorure ferrique	42
I-4-1-2-Réduction de la ferrozine.....	43
I-4-1-3-Réduction de phpsphomolybdates d'ammonium.....	43
I-5-Pouvoir anti-radicalaire.....	44
I-5-1-Neutralisation de radical DPPH.....	44
I-5-2-Neutralisation de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	45
Conclusion.....	47

Références bibliographiques

Annexes

1-Echantillonnage

Le travail porte sur l'étude phytochimique des feuilles de cinq plantes médicinales, récoltées durant le mois de février 2013, dans deux régions différentes de la wilaya de Bejaia ; *l'Aloès Vera* et *l'Urtica dioica* sont récoltées dans la région de Chemini, alors que la *Dryopteris filix-mas*, *Lavandula stoechas* et *Marrubium vulgare* a Souk- el- tenine (région Tamridjt). Le prélèvement des échantillons a été fait au hasard (Figure).



Marrubium vulgare L



Aloe vera L



Lavandula stoechas L



Urtica dioica L



Mrrubium vulgare L

Figure 10 : Photos montrant les cinq plantes étudiées

2-Traitement des échantillons

2-1- Nettoyage et séchage

Les plantes fraîchement récoltées, ont été bien lavées afin de les débarrasser de la poussière et de mauvaises herbes, puis séchées dans une étuve ventilée à une température de 40°C pendant quelques jours , jusqu'à stabilisation du poids des feuilles des plantes.

2-2-Taux d'humidité

Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Des échantillons représentatifs (feuilles) de 1g et 10g sont portés à 105C°, pendant 4h jusqu'à stabilisation du poids. Les résultats des taux d'humidité des différents échantillons sont exprimés par l'équation ci-dessous (**Bergoin, 2005**).

$$\mathbf{TH\ (\%)\ =\ [(P_{av}-P_{ap})/P_{av}]\ \times\ 100}$$

TH : humidité du produit exprimé en %

P_{ap} : poids après séchage

P_{av} : poids avant séchage

2-3- Broyage, tamisage et conservation

Après le séchage, les plantes ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique (IKA A11 BASIC) jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

Les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamiseur électrique, afin de récupérer les particules dont le diamètre est inférieur à 250 µm, dans le but d'optimiser l'extraction.

Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des flacons en verre opaques, à l'abri de la lumière et de l'humidité et à température ambiante.

2-4-L'extraction des antioxydants

La méthode utilisée pour l'extraction des composés phénoliques des cinq plantes, est celle décrite par *Chan et al, (2009)* avec quelques modifications. Le protocole expérimental est illustré dans la figure (11).

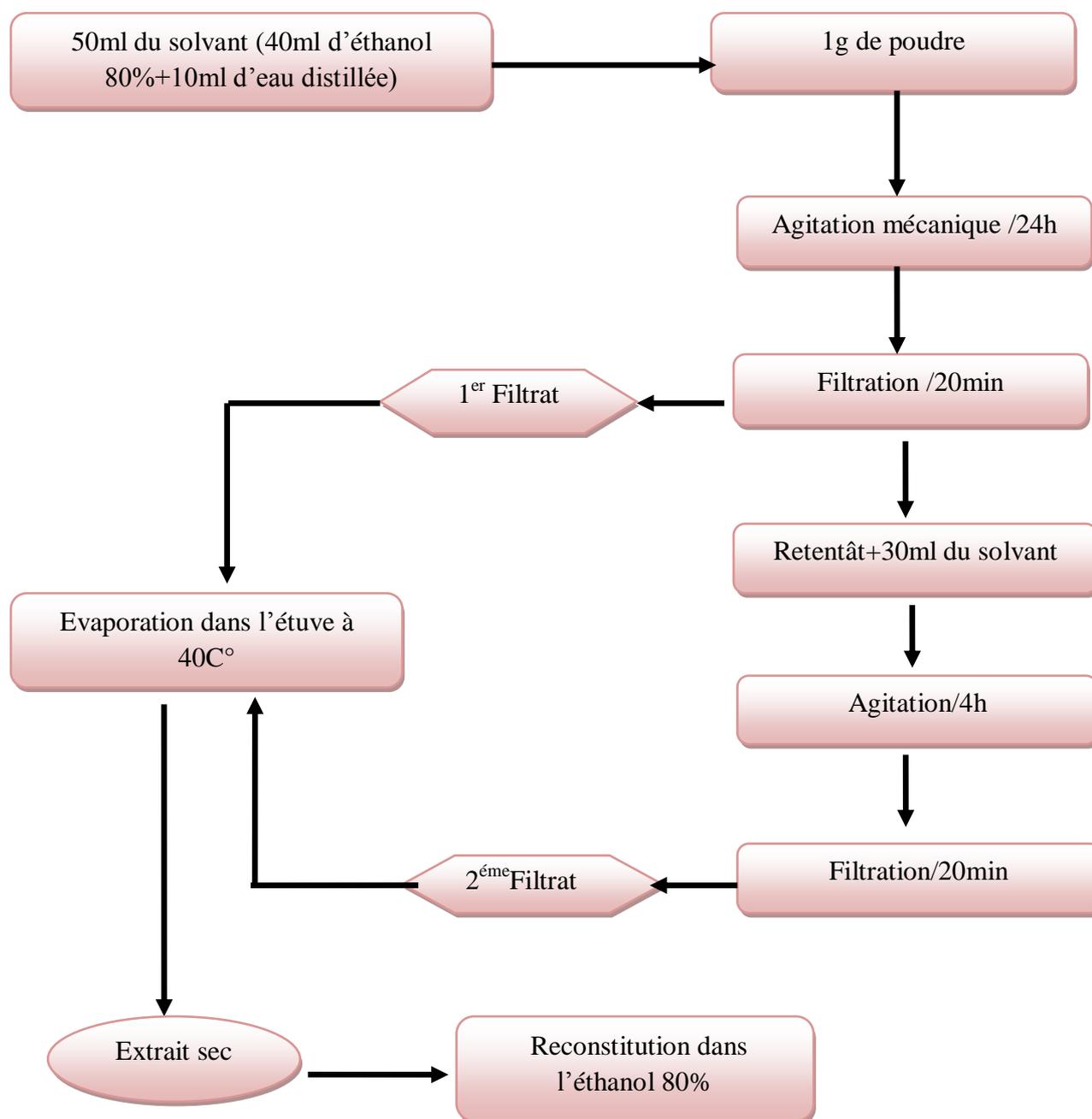


Figure 11: Protocole d'extraction des composés phénoliques (Chan *et al.*, 2009)

La reconstitution des extraits est faite avec l'éthanol et le rendement d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = [(p_1 - p_0) / E] \times 100$$

Tels que :

P₁ : poids du bécher après évaporation(g)

P₀ : poids du bécher vide(g)

E : poids de l'échantillon (la poudre) (g)

3-Dosage des antioxydants

3-1-Polyphénols totaux

➤ Principe

La mise en évidence des composés phénoliques est réalisée généralement par des réactions colorées, après l'ajout des réactifs spécifiques pour chaque classe de polyphénols. La quantification de ces derniers, s'opère par la mesure de l'intensité de la couleur obtenue. Celle-ci est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon et al., 1968**).

Le principe de cette réaction est basé sur la réduction en milieu alcalin de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) lors de l'oxydation des polyphénols. La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 700 nm. Cette coloration est proportionnelle aux taux des composés phénoliques (**Lapornik et al., 2005 ; Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

➤ mode opératoire

La quantité de polyphénols contenue dans l'échantillon a été déterminée selon la méthode de **Velioglu et al, (1998)**. Afin de réaliser ce dosage ; 1,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteau (dilué dix fois), additionnés à 200 ul d'extrait de chaque plante, puis incubé à température ambiante pendant 5 min. 1,5 ml de solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (6%) est ajouté. Une fois mélangés, les tubes ont été portés à l'obscurité pendant 90 min (dans le but d'éviter l'oxydation des polyphénols). Un témoin a été préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

Les absorbances de tous les échantillons ont été mesurées à 725 nm en utilisant un spectrophotomètre. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en mg équivalent d'acide gallique (E.A.G) par 100g d'extrait sec, a été déterminée en se référant à

la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (Annexe V-1).

3-2- Flavonoïdes

➤ Principe

Avec les groupements orthodihydroxyyles sur les noyaux A ou B, le groupement hydroxyle libre en position C₃ ou C₅, ou le groupement cétonique C₄, les flavonoïdes ont la capacité de chélater les métaux tels que le fer et l'aluminium (**Rice-Evans *et al.*,1997**) en présence de chlorure d'aluminium (AlCl₃), les flavonoïdes sont capable de donner des complexes de couleur jaunâtre. Ces derniers peuvent être dosés par spectrophotomètre UV-VIS (**Bahurum *et al.* 1996 ; Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plantes est évaluée selon la méthode décrite par **Ordonez *et al.*, (2006)**.

Pour 1,5 ml d'extrait sont ajoutées 1,5 ml de chlorure d'aluminium (2%). Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. Les concentrations en flavonoïdes sont déterminées en se référant a une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercetine (Annexe IV-2).Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents quercetine (EQ) par 100g de l'extrait sec.

3-3- Flavonols

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonols a été déterminée selon la méthode de (**Jimoh *et al.*, 2010**) avec quelques modifications. 300 µl d'extraits éthanoliques ont été additionnés de 300 µl de chlorure d'aluminium (2%) et 450 µl d'acétate de sodium (60g/l). Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450nm. Les concentrations sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage et les résultats ont été exprimés en mg EQ par100g de l'extrait sec (Annexe V-3).

3-4- Tannins

La principale propriété des tannins est leur aptitude à se combiner aux protéines, cette dernière constitue un des principes de leur quantification. Cependant cette propriété est liée

aux conditions du milieu réactionnel (pH, température, force ionique...etc.) (De Freitas *et al.*, 2003 ; Nacz *et al.*, 2006).

➤ Principe

Le principe de la méthode repose sur la précipitation des tannins en présence de la protéine BSA. Le complexe tannin-protéine réagit avec le chlorure ferrique (FeCl_3), en milieu alcalin et en présence de SDS et du TEA, pour former des chélates de couleur violette, dont la formule générale est $\text{Fe}(\text{OR}^{3-})$, ou le OR^- représente le polyphénol ionisé, et elle est proportionnelle à la quantité des tannins présente dans les échantillons (Hegerman et Butler, 1978).

➤ Mode opératoire

Le dosage des tanins totaux a été effectué selon la méthode décrite par Hagerman et Bulter (1978) comme suite : le protocole expérimental est présenté dans la (figure17).

Une solution de sérum albumine bovine (BSA) est préparée dans un tampon acétate (pH 4,9 ; 0,20M) a une concentration de 1mg /ml. Un volume de 2ml de cette solution est ajouté à 1ml d'extrait. Le mélange a été agité immédiatement et incubé à 4°C pendant 24 heures, les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 tours /min pendant 15min, Le surnageant est jeté et le précipité est dissout dans 4 ml de la solution de SDS/TEA (mélanger jusqu'à la dissolution du précipité), le mélange est incubé à l'obscurité pendant 15 min, puis on mesure la lecture de la première absorbance (A_1) à 510 nm, ensuite on ajoute au mélange 1ml de la solution de FeCl_3 . Après une incubation de 15 minutes, la deuxième lecture de l'absorbance (A_2) est effectuée au spectrophotomètre contre un tube témoin où l'échantillon est remplacé par un volume équivalent d'éthanol. La longueur d'onde maximale est fixée à 510 nm par un balayage spectral allant de 400 à 800 nm. La lecture due aux tannins est calculée comme suit :

$$A_{\text{tannins}} = A_2 - A_1$$

En se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique, les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par 100gramme de l'extrait sec (mg EAT/100g ES) (Annexe V-4).

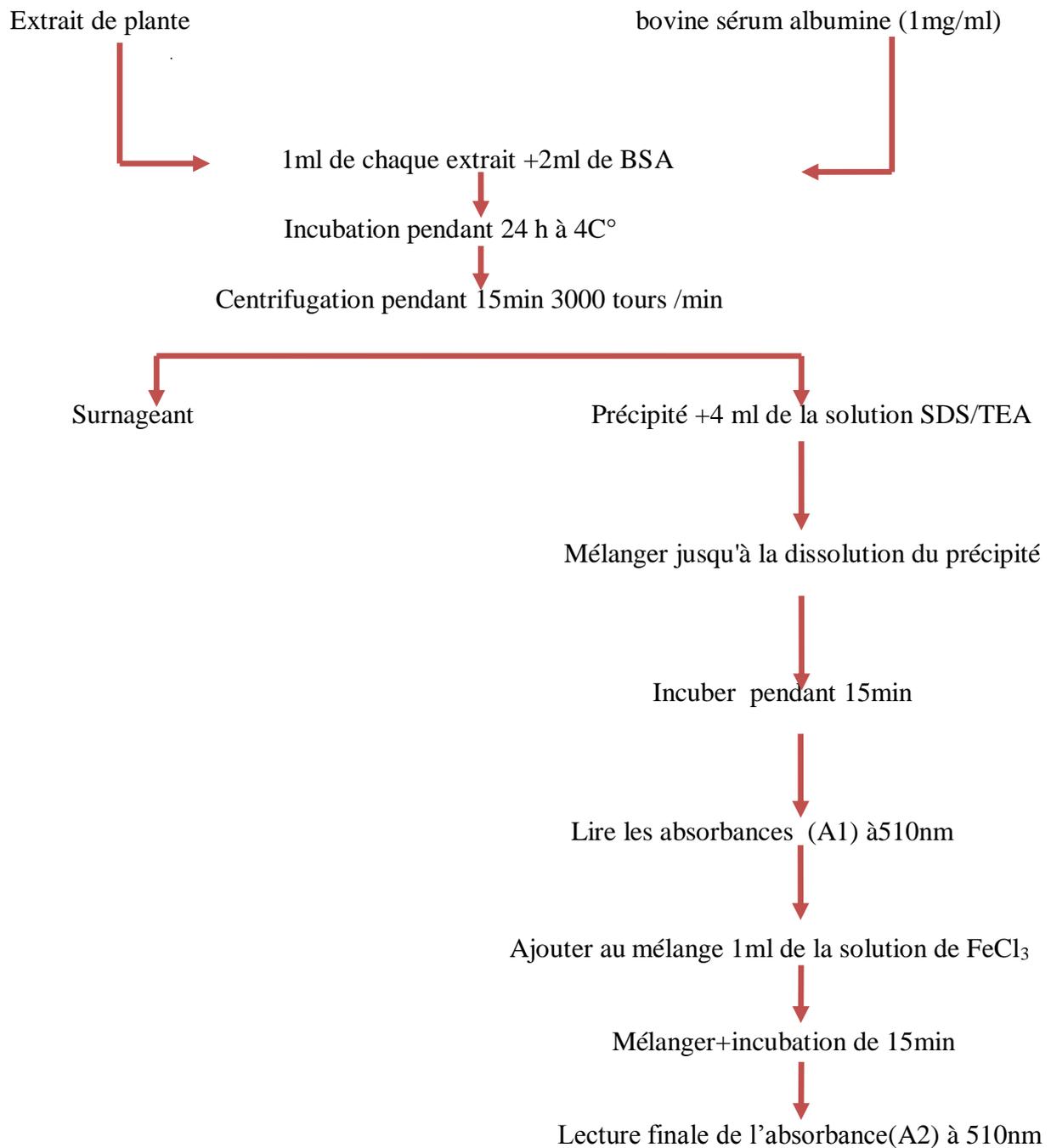


Figure 12 : Protocole de dosage des tannins totaux (Hagerman et Bulter., 1978)

3-5- Anthocyanines

➤ Principe

Cette méthode utilise la propriété des anthocyanines d'exister, en milieu acide, sous une forme colorée et sous une forme incolore en équilibre. La position de l'équilibre dépend du pH. Par conséquent, la variation de l'intensité colorante entre deux valeurs de pH (1 et 4.5 par exemple) est proportionnelle à la teneur en pigments.

➤ Mode opératoire

La teneur en anthocyanines a été déterminée selon la méthode décrite par **Sellapane et Akoh (2002)** légèrement modifiée, en utilisant les tampons de chlorure (pH=1 ; 0,025M) et d'acétate (pH=4,5 ; 0,4M). Une quantité de la poudre (1g) a été mélangée avec 10ml d'eau distillée, légèrement acidifiée avec l'acide chlorhydrique (0,1N). Après 15min d'agitation, le mélange est filtré, le filtrat est centrifugé à 1500 tours pendant 10min.

Dans deux tubes à essai, contenant chacun 1ml d'extrait, sont ajoutés 8ml de tampon (pH=1,0) pour le premier et 8ml de tampon (pH=4,5) pour le deuxième tube, et l'absorbance est mesurée à 510nm et à 700nm pour chacun.

La teneur en anthocyanines, exprimée en mg par 100g de l'extrait sec, est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Anthocyanines (mg/100g)} = (\text{Abs}/ e^L) \times M \times D \times (V/P) \times 100$$

D'ou:

$$\text{Abs} = [(A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4,5}]$$

e : Coefficient d'absorbance molaire de la cyanidine-3-glucoside (26900)

L : Épaisseur de la cuve

M : Poids moléculaire de cyanidine-3-glucoside (449.2)

D : Facteur de dilution ;

V : Volume final de l'extrait (ml)

P : Masse de l'échantillon (mg)

3-5- Caroténoïdes

➤ Principe

L'extraction des caroténoïdes comporte deux phases : une phase apolaire (hexanique) qui permet de récupérer les caroténoïdes et une phase polaire (acétone et éthanol) pour éliminer les molécules hydrophiles (**Bachir bey, 2006**).

Le système de doubles liaisons conjuguées au niveau de la longue chaîne des caroténoïdes explique l'aptitude de ces composés à absorber la lumière visible, il confère à ces molécules leur couleur attractive permettant ainsi leur qualification et quantification mais aussi les rendent très susceptibles à l'oxydation (**Rodriguez-Amaya, 2001**).

➤ Mode opératoire

La teneur en caroténoïdes totaux des feuilles de plantes est déterminée selon la méthode décrite par (**Zamora et al., 2005**), qui consiste à extraire les caroténoïdes, à l'abri de la lumière, en homogénéisant (3g) de feuilles avec 30 ml d'un mélange de solvant (hexane, acétone, méthanol: 13, 10, 7) pendant 15 mn. Deux millilitres d'une solution de KOH (1M) sont additionnés au mélange qui sera gardé à l'abri de la lumière pendant 16 h. Ensuite, sont ajoutés respectivement, 30ml d'hexane et après une minute, 30 ml d'une solution de sulfate de sodium (1%). Le mélange est laissé décanter, à l'abri de la lumière, pendant une heure et la phase supérieure qui représente l'extrait caroténoïde est récupérée. L'absorbance des extraits est mesurée à 450 nm et la concentration en caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenu en utilisant le β -carotène (Annexe V-6).

4-Détermination de l'activité antioxydante

4-1- pouvoir réducteur

4-1-1- Réduction de chlorure ferrique

➤ Principe

Cette méthode repose sur la réduction du fer ferrique du complexe ferricyanure- Fe^{3+} utilisé dans cette méthode en fer ferreux Fe^{2+} en présence des réducteurs dans l'extrait. La forme réduite donne des nuances de vert et de bleu proportionnelles au pouvoir réducteur de l'extrait (**Soares et al., 2009**).

➤ Mode opératoire

La réduction de chlorure ferrique (FeCl_3) des extraits est déterminée selon la méthode décrite par **Lim et al. (2006)** : Pour 1 ml d'extraits éthanoliques ou de standard (acide gallique) à différentes concentrations sont ajoutés 1 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferrocyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 30 mn dans un bain marie,

1.5 ml d'acide trichloroacétique (10%) sont ajoutés, et le mélange est centrifugé à 3000 tours /min pendant 10min. 1,5 ml du surnageant sont additionnés de 1,5 ml d'eau distillé et 0,5 ml de chlorure ferrique (0,1%), l'absorbance est mesurée à 700 nm après 10 min. (Annexe V-9).

4-1-2-Réduction de la ferrozine

➤ **Principe**

La ferrozine forme avec les ions ferreux bivalents stables, des complexes rouges ou violets solubles dans l'eau, avec une absorbance de 562 nm. En présence d'agent chélateur, la formation de complexe est perturbée, entraînant une réduction de la couleur du complexe. La mesure de réduction de la couleur permet donc l'estimation de chélation de fer (**Gulcin et al., 2010**).

➤ **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur, par la réduction de la ferrozine, des extraits éthanoliques étudiés est évalué selon la méthode décrite par **Bourgou et al, (2007)**

Un volume de 0,1ml d'extrait éthanolique est additionné à 2,75ml d'eau distillé et 0.1ml de la ferrozine (5mM) et 50ul de FeCl₂ (2mM). L'absorbance est mesurée à 562 nm après une incubation à l'abri de la lumière pendant 10min. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$PI\% = [(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{extrait}} / Abs_{\text{blanc}})] \times 100$$

D'où :

Abs_{blanc} : Absorbance du blanc après 10 min à 562 nm

Abs_{extrait} : Absorbance des extraits après 10 min à 562 nm

4-1-3- Réduction de phosphomolybdate d'ammonium

➤ **Principe**

Le test utilisant le molybdate d'ammonium est basé sur la réduction du molybdate sous sa forme Mo⁶⁺ vers la forme Mo⁵⁺ par des substances antioxydantes. Par conséquent, il y a formation d'un complexe (phosphate-Mo⁺⁵) de couleur verdâtre, en milieu acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Bougatf et al., 2009**).

➤ **Mode opératoire**

Le protocole expérimental est celui décrit par **Meot-Duros et ses collaborateurs (2008)** avec quelques modifications. 200µl de l'extrait a été additionnés à 2 ml de la solution de

phosphomolybdate (0,6 mM d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). La lecture a été faite à 695 nm après une incubation du mélange à 90 min au bain-marie à 90°C. La concentration en phosphomolybdate est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe V-5)

5-Détermination du pouvoir antiradicalaire

5-1-Neutralisation du radical DPPH

➤ Principe

Le DPPH est un radical libre, avec une absorbance caractéristique, qui diminue significativement en présence d'antioxydants à effet scavenger (**Tung et al ., 2007**) Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant d'exercer un « effet scavenger » sur le radical stable DPPH (2,2diphényl-pycrylhydrazyl). . Ce pouvoir est évalué par un test de décoloration, La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait en mesurant la dissipation de la couleur (violet → jaune) qui est due à la réduction de DPPH avec les composés phénoliques. La perte de cette couleur indique un effet scavenger dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnel à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. La décoloration est suivie en spectroscopie visible à 517 nm (**Molyneux, 2004**).

➤ Mode opératoire

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par la méthode décrite par **Brand-Williams et al. (1995)**, légèrement modifiée par **Lim et al. (2006)**.

Un volume de 2 ml d'une solution de DPPH ($6 \cdot 10^{-5}$ mM), qui doit être fraîchement préparée dans le méthanol, est ajouté à 500ul d'une solution d'extrait de plantes. En parallèle, des solutions de standard et de contrôle sont préparées de la même façon que les échantillons de plantes, en remplaçant les volumes des extraits par l'éthanol, et le volume de DPPH par le méthanol pour le standard. La lecture des absorbances à 517 nm, sont effectuées après 30minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH donnés par la Formule suivante :

$$\% \text{ DPPH réduit} = [(Abs_{\text{contr}} - Abs_{\text{ech}}) / Abs_{\text{contr}}] \times 100$$

D'où :

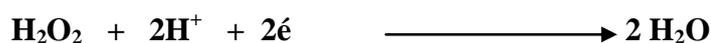
Abs_{Contr} : Absorbance du contrôle

Abs_{Ech} : Absorbance de l'échantillon

5-2-Neutralisation de peroxyde d'hydrogène(H₂O₂)

➤ **Principe**

L'effet scavenger du peroxyde d'hydrogène des extraits végétaux peut être attribué à leurs teneurs en composés phénoliques. Ces derniers ont la capacité de céder deux électrons au peroxyde d'hydrogène et de le neutraliser en formant deux molécules d'eau :



Cette activité est interprétée par la diminution des absorbances des différents extraits en présence de H₂O₂ (**Wettasinghe et Shahidi, 2000**).

➤ **Mode opératoire**

L'inhibition de l'H₂O₂ par l'extrait des plantes a été déterminée selon la méthode décrite par **Yousfi et al. (2003)** avec quelques modifications.

Un volume de 1,5ml d'extrait est ajouté à 0,5 ml d'une solution d'H₂O₂ (30%). Le blanc est réalisé avec l'extrait en absence de H₂O₂. Les absorbances sont lues à 510nm après 10min. Le pourcentage d'inhibition du radical H₂O₂ est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{d'inhibition du H}_2\text{O}_2 = [(A_b - A_{ech}) / A_b] \times 100$$

D'où :

A_b : Absorbance du blanc

A_{ech} : Absorbance de l'échantillon

6- Analyse statistique

L'analyse descriptive des résultats est réalisée avec le logiciel Microsoft Office Excel 2007, pour déterminer les moyennes et les écarts types.

Tous les résultats représentent la moyenne de trois essais et sont comparés par une analyse de la variance, en utilisant ANOVA (STATISTICA 5.5) suivi du test LSD (la plus petite différence significative) à une probabilité $p < 0,05$.

Introduction

Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Ce retour au label du naturel s'accroît sachant déjà que, selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire les besoins en soins de santé primaire. **(Bahar et Balouk, 2011).**

L'organisme produit quotidiennement des radicaux libres, composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux. La surproduction des radicaux libres peut être néfaste pour l'organisme **(Hadi, 2004)**, ce dernier est la principale cause de plusieurs maladies : cancer, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, diabète et maladies cardiovasculaires **(Favier, 2003 ; Sies et al., 1992).**

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant, afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé **(Mezziti, 2009).**

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules antioxydantes qui sont capables de stopper ce processus en neutralisant ces radicaux libres et en inhibant la peroxydation des lipides. Parmi ces antioxydants : les caroténoïdes, les vitamines et les polyphénols. Ces derniers sont des composés très répandus chez les plantes et contribuent à leur couleur et flaveur. Ils sont largement étudiés pour leurs propriétés biologiques et pharmaceutiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactérienne et antimutagénique **(Chaher, 2006 ; Zeghad, 2009)**

Notre travail rentre dans le cadre de la mise en évidence de quelques activités biologiques des extraits de cinq plantes médicinales locales ; Lavande (*Lavandula stoechas L*), Marrube blanc (*Marrubium vulgare L*), l'Ortie (*Urtica dioica L*), Aloès (*Aloe vera L*) et la fougère mâle (*Dryopteris filix-mas L*). Pour ce faire nous avons subdivisé cette étude en deux parties :

- Dans un premier temps, une synthèse bibliographique qui englobe les matières végétales, les composés phénoliques et leurs activités biologiques.
- Une autre partie de ce travail, est une étude expérimentale dont les objectifs sont :
 - Quantification de différentes classes phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, Tannins, caroténoïdes et anthocyanines).
 - Etude de l'activité antioxydantes de différents extraits des plantes étudiées par différentes méthodes (le pouvoir réducteur, la Ferrozine, le test au phosphomolybdate d'ammonium, le pouvoir antiradicalaire au DPPH et la neutralisation de radical H₂O₂).

I- Définition des plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (**Bahar et Balouk, 2011**).

I-1-*Marrubium vulgare* L

I-1-1- Description botanique

L'espèce *Marrubium vulgare* est une herbe vivace de la famille des Lamiaceae ; qui est largement utilisée en médecine traditionnelle (**Guertin ,2003 ; Meyre-Silva et al .; 2005 ; Pukalskas, 2008 ;vanet, 1992**). Cette espèce a un aspect blanchâtre à odeur forte et légèrement musquée, et mesure 30 à 80 cm de hauteur. Elle possède une tige épaisse, cotonneuse et quadrangulaire très feuillée, qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine .Ces feuilles sont arrondies, crénelées, gaufrées, feutrées à la face inférieure, dentées et duveteuses. Le *Marrube blanc* dispose de petites fleurs blanches bilabiées, caractérisées par un calice à dents crochues est une corolle blanche. (**Bézanger-Beauquesne et al., 1986 ; Bézanger-Beauquesne et al., 1990 ; Iserin, 2001; Schauenberg, 2005**).

I-1-2- Répartition géographique

Marrubium vulgare est commune dans toute l'Algérie, au bord des chemins et des rues des villages (**Delille ,2007**). Cette plante fréquente les endroits incultes de presque toute l'Europe (surtout la région méditerranéenne), Afrique du nord, Asie centrale et occidental et presque dans tout le continent américain. Cette plante pousse sauvagement dans les terres arides et sablonneuses (**Bézanger-Beauquesne et al ., 1990 ; Bremness, 2005 ; Iserin , 2001 ; Pukalskas , 2008**).

I-1-3- Noms vernaculaires

Selon **Bock (2013) ; Delachaux et Niestlé, (1977) ; Temani (2006)** les noms vernaculaires sont :

Français: Marrube Blanc, Marrube commun, Marrube vulgare

Anglais: White Horehound, Wild Horehound

Espagnol: Malrubí Blanc, Marrubio

Etalais: Marrubio comune, Mentastro, Robbio

Almond: Weisser Adorn

Algeria: Roubia, Timeriout, Ifzi, Aferkizoud (**Dellile , 2007**) et **Halimi , 2004**)

Kabyle : Merouyeth

I-1-4- Classification systématique

Selon **Bock, (2013)** la classification systématique de *Marrubium vulgare L.* est la suivante :

Règne : végétal (Plantae)

Sous règne : Plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Marrubium*

Espèce : *Marrubium vulgare L.*

I-1-5- Composition chimique

Le genre *Marrubium* est riche en polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les phénylpropanoïdes. Il convient aussi de signaler la présence d'acides phénoliques dérivés d'acide cinnamique, et de certains polymères comme les lignanes .La présence de diterpénoïdes labdanes est aussi une autre marque chimiotaxonomique. Cette famille de composés naturels est jusqu'à présent la plus explorée dans le genre *Marrubium* (**Chebrouk et al., 2011 ; Guertin , 2003**).

Les sommités fleuries recèlent des diterpènes amers dont la marrubiine, la prémarrubiine et l'acide marrubique .Le *Marrube* contient également des flavonoïdes, des acides phénols, des traces d'huile essentielles ainsi que des mucilages aux propriétés antitussives (**Hunin et al.; 2008**).

I-1-6- Effets thérapeutiques

Le *Marrube blanc* est prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires comme les bronchites, les bronchectasies (dilatation pathologique des bronches), bronchites asthmatiformes, toux sèches et de coqueluches. Tonique amer, *Marrubium vulgare* est utilisée comme apéritif, améliore le fonctionnement de l'estomac régularise le rythme cardiaque et fluidifie les mucosités. (**Bézanger-Beauquesne et al., 1986 ; Djerroumi et Nacef , 2004 Iserin , 2001 ; valnet , 1992**).

Autres effets bénéfiques de cette plante est son utilisation traditionnelle dans le traitement de l'inflammation liée à des symptômes tels que le rhume, la fièvre et les maux de gorge (**Yamaguchi et al ., 2006**).

La marrubiine, principe actif majeur de cette espèce, est un expectorant et une substance amer puissante .C'est aussi un anthiarrythmique, mais à des doses plus élevée devient arrhythmogène (**Duke et al ., 2002 ; Iserin, 2001 ; Schauenburg , 2005**).

Marrubium vulgare possède, en plus des propriétés antioxydantes, des effets analgésiques, antispasmodiques et insecticides. Récemment, les chercheurs ont démontré que cette plante diminue la glycémie et le taux des lipides sériques chez les patients atteint de type II (**Meyer-Silva et al., 2005 ; Stulzer et al., 2006**).

I- 2-Aloe Vera L

I-2-1- Description botanique

C'est une plante arborescente de 70 cm de haut. Possédant de grandes feuilles vertes épaisses pointues, de section triangulaire et bordées de dents. L'inflorescence produit une grappe dense de petites fleurs rouges, oranges ou jaunes, en forme de trompettes. La coupe transversale d'une feuille, laisse apparaître une pulpe épaisse gélatineuse (le gel) refoulant à la périphérie une mince couche externe contenant un liquide jaune ou rougeâtre (le suc) (**Djerroumi et Nacef, 2004 ; Gigon, 2009**).

I-2-2- Répartition géographique

Depuis des siècles en Espagne, l'Aloès est connu et domestiqué par bouturage. De nos jours, il est mondialement cultivé dans les régions chaudes du globe, notamment dans les régions sub-tropicales comme l'Amérique du sud, les Etats-Unis du sud, l'Asie, les Caraïbes, et l'Inde (**Donnadieur, 2013 ; Gigon, 2009**).

Il est cultivé aussi en Italie, en Sicile, à Malte et aux Antilles (**Chopra et al., 1960**).

I-2-3- Noms vernaculaires

Selon **Bertin et Phillipson (2011)** les noms vernaculaires sont :

Français : Aloès vera

Latin : Aloe vera ou Aloe barbadensis, Aloe ferox

Anglais : Aloe, Cape Aloe, Aloe Gel, Aloe Juice, Aloe Concentrate, Aloe Latex.

Arabe: Al sabar, Al adjaf (**Djerroumi et Nacef , 2004**)

Kabyle : Assebar

I-2-4- Classification systématique

Selon **Dobignard, (2013)** la classification systématique de *l'Aloe vera L* est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Aloaceae

Genre : *Aloe*

Espèce : *Aloe vera L.*

I-2-5- Composition chimique

L'analyse biochimique de la feuille *d'Aloès vera* est exceptionnelle par sa richesse ; contient plus de 75 éléments nutritifs et 200 autres composants, ainsi que 20 minéraux, 18 acides aminés et 12 vitamines ; Antraquinones (aloïne A et B) ; Résines (alorésines, aloénines) ; Tanins ; Polysaccharides ; Aloétine (**Donnadieur, 2013 ; Hunin et al., 2008**).

La pulpe contient beaucoup d'eau, des sucres simples et complexes impliqués dans la réponse immunitaire (lectines, polysaccharides), une huitième d'acides aminés essentiels constituant des protéines, de multiples minéraux et oligoéléments (calcium, chlore, cuivre, chrome, zinc, sélénium, potassium, fer sodium, manganèse, lithium, magnésium, phosphore), des enzymes facilitant le métabolisme cellulaire et de la digestion, et enfin une gamme de vitamines (B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12) dont les antioxydantes A, C et E et des polyphénols (**Donnadieur, 2013 ; Hamman , 2008**).

Le suc ne devrait plus être employé, car il contient des principes actifs responsables de son fameux effet laxatif, par irritation de la muqueuse intestinale. Les dérivés anthracéniques (aloïne A et B). Par ailleurs, le suc pourrait être responsable d'atteintes rénale et hépatique (**Gigon, 2009 ; Hamman, 2008**).

I-2-6- Effets thérapeutiques

L'Aloès Vera est un détoxifiant qui est administré par voie orale, il stimule et accroît l'énergie des bonnes cellules, qui soutiendront les cellules déficientes, en renfonçant l'immunité.

Il régénère les tissus, accélère ainsi la cicatrisation des lésions et ulcérations. *L'Aloès Vera* est cicatrisant. Utilisé autant qu'antiseptique, antibiotique et bactéricide naturel, constitue un remède pour nombreuses infections, y compris celles d'origines fongicides : "Teigne, muguet, vulvite, verrue, hémorroïdes ...etc. Les aphtes, rougeurs, coupures, blessures, eczéma, acné et piqûres d'insectes...etc. Sont aussi traités avec *L'Aloès Vera* (**Donnadieu, 2013**).

On utilise *L'Aloès Vera* pour lutter contre la constipation chronique. Il entre également dans la composition de certaines spécialités que l'on prend pour maigrir, à éviter en cas de grossesse ou d'hémorroïdes. En usage externe, cicatrisant et contre les brûlures (**Delachaux et Niestlé, 1977 ; Djerroumi et Nacef, 2004**).

I-3-*Lavandula stoechas* L

I-3-1- Description botanique

Lavandula stoechas L est un sous-arbrisseau de 30-60 cm. Tomenteux-blanchâtre, à rameaux peu allongés, tétragones, feuillés jusqu'au sommet ; feuilles blanches-tomenteuses sur les 2 faces, fasciculées aux nœuds, linéaires ou linéaires-oblongues, ou coin à la base ; fleurs d'un pourpre foncé, en épis courtement pédonculés, ovales ou oblongs, compacts, quadrangulaires, surmontés d'un faisceau de grandes bractées stériles violacées ; bractées fertiles larges, obovales-subtrilobées, membraneuses, veinées, plus courtes que le calice très velu ; carpelles ovales à 3 angles (**Bahar et Balouk, 2011 ; Bock, 2013 ; Léger, 2012**).

I-3-2- Répartition géographique

C'est certainement la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste, si bien qu'elle est ré pondue sur tout le pourtour méditerranéen (sud-ouest d'Europe, Moyen Orient et Afrique du Nord) et spécifiquement en Californie caractérisée par le climat méditerranéen (**Bahar et Balouk, 2011 ; Bauquesne, 1991 ; Djerroumi et Nacef, 2004 ; Lamnauer, 2002**).

I-3-3- Noms vernaculaires

Selon **Bock, (2013)** et **Léger, (2012)** les noms vernaculaires sont :

Français : *Lavande sté chade*, Lavande à toupet

Anglais: Butterfly Lavender, French Lavender, Fringed Lavender, Spanish

Espagnol: Cabeçuda, Cantahueso, Cantueso Morocco, Romaní mascle

Etalais : Lavanda di monte, Lavanda selvatica, Steca, Stecaole

Berbère : Amezzir, Timerza, ou imezzir (**Catherine et al., 2001**).

Arabe: Halhal, Meharga (**Johannes, 2005**).

I-3-4- Classification systématique

Selon **Léger, (2012)** *Lavandula stoechas L* est classée comme suit :

Règne : végétal (Plantae)

Sous-règne : Chlorobiontes

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Famille : Lamiaceae

Ordre : Lamiales

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas L*.

I-3-5- Composition chimique

Les constituants chimiques potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont :

- Monoterpenes : α -pinène, β - pinène
- Monoterpenes alcool: α -terpineol, borneol, lavandulol.
- Monoterpenes aldéhydes : aldéhyde de cumin.
- Traces de nombreux autres composés, tels que flavonoïdes.

Lavandula stoechas L. Renferme comme composés phytochimiques : α -pinène, β - pinène, coumarine, acide ursolique (**Mohammedi, 2005**). Toutes les espèces de la *lavande* et ses hybrides, sont des plantes hautement aromatiques, qui produisent des mixtures complexes d'huiles essentielles, par des glandes situées sur la surface des fleurs et des feuilles (**Bahar et Balouk, 2011**).

I-3-6-Effets thérapeutiques

L'importance médicinale de la plante et les médicaments préparés à partir de cette plante sont enregistrés dans beaucoup de pharmacopées. La plante est employée comme expectorant

antispasmodique, carminative, bon stimulant et obstruant dans la guérison des blessures. Les huiles obtenues à partir des brindilles fleurissantes ont été employées comme remède contre des douleurs coliques, infection respiratoires, les maux de tête et pour le nettoyage des blessures (Ahmed *et al.* , 2002 ; Bahar et Balouk, 2011).

Autrefois, *Lavandula stoechas* était importée du Pakistan et employée par les guérisseurs traditionnels pour soigner différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine : on l'appelle "le balai du cerveau" et elle est recommandée en cas de nervosité. Ainsi, l'infusion ou l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* est utilisée en médecine traditionnelle contre différentes maladies. Son utilisation contre ces dernières est très diversifiée, en raison de sa répartition géographique très vaste dans le monde (Gulçin *et al.* ; 2004).

I-4- *Urtica dioica* L

I-4-1- Description botanique

L'ortie dioïque est une plante herbacée vivace, vigoureuse et à longue durée de vie Sa taille peut atteindre plus d'un mètre. Les feuilles sont d'un vert frais, opposées, pétiolées, stipulées, ovées, dentées et velues sur les deux faces. Les tiges sont plus ou moins raides, quadrangulaires et couvertes de poils urticants. L'effet irritant de l'ortie provient de ces derniers qui renferment de l'acide formique (Beaudoin et Ouellet, 2010)

Fleurs dioïques, parfois monoïques, en grappes rameuses bien plus longues que le pétiole, les fructifères pendantes ; périanthe pubescent (Bock, 2013).

I-4-2- Répartition géographique

Le nord d'Asie, ainsi qu'à l'Amérique du Nord et du Sud et en Afrique du Sud d'un vert sombre, elle est très commune en France, bien que plus rare en région méditerranéenne. Elle est présente dans presque toutes les régions du monde: de l'Europe et l'Afrique du sud (Draghi, 2005).

L'ortie dioïque est indigène au Canada. Au Québec, elle est surtout fréquente dans les milieux habités, les lieux ouverts, les fossés et en bordure des chemins (Beaudoin et Ouellet, 2010).

I-4-3- Noms vernaculaires

Selon Beaudoin et Ouellet, (2010) ; Bock, (2013) et Vanstippen, (2005) les noms vernaculaire sont :

Français : ortie commune, grande ortie, ortie dioïque, Ortie piquante, Ortie élevée

Anglais: Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, Greater Nettle

Italia: Ortica comune

Espanola: Ortiga gran, Ortiga grossa, Ortiga major, Ortiga mayor

Arabe: Alhraig, Bozkdon (**Djerroumi et Nacef, 2004**)

Kabyle : Azegthouf.

I-4-4- Classification systématique

Selon **Bock, (2013) et Draghi, (2005)** *Urtica dioica L* classée comme suit :

Règne : Plantae

Classe : Rosidae

Sous-classe : Rosidae dialycarpellées

Famille : Urticaceae

Ordre : Rosales

Genre : *Urtica*

Espèce: *Urtica dioica L.*

I-4-5- Composition chimique

la partie aérienne d'*Urtica dioica* riche en Vit B2, B5, B9, et C, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Si, Zn, l'histamine, la choline, protéines, flavonoïdes (10 à 60% de chlorophylle), caroténoïdes, acide formique (**Vanstippen, 2005**).

Acides caféique et chlorogénique, et d'autres substances (sitostérol, acides aminés libres) .Les racines sont riches en lectines, glycanes, galacturonanes, lignanes, tanins et stérols. Les graines, enfin, contiennent des protéines, des mucilages et 30% d'huile grasse (**Djerroumi et Nacef, 2004 ; Hunin et al ., 2008**).

I-4-6- Effets thérapeutiques

Redoutée pour ses piqûres, l'ortie est également appréciée pour ses vertus médicinales.

La présence de vitamines B2, B5, d'acide folique, de silice et de zinc permet de lutter contre les ongles cassants, la chute des cheveux et favorise leur repousse. Le traitement de l'acné est possible en raison de l'effet anti-inflammatoire du zinc présent dans l'Ortie. Elle est dépurative, elle « régénère le sang » (dartres, eczéma, maladies de la peau). Il est utilisé par voie orale, en teinture homéopathique, contre la Varicelle.

L'Ortie est utilisée contre l'anémie et le manque d'énergie: c'est un excellent fortifiant général grâce à sa haute teneur en fer, vitamine C et autres minéraux. Son effet reminéralisant en fait un remède efficace pour l'arthrose ou les rhumatismes. Il stimule les fonctions digestives

(lourdeurs et crampes d'estomac). Il est diurétique et astringente. Il améliore l'attention intellectuelle et agit favorablement sur l'anxiété et les états dépressifs (**Draghi, 2005 ; Hunin et al ., 2008 ; Vanstippen, 2005**).

I-5- *Dryopteris filix-mas* “*Crispa Cristata L*”

I-5-1- Description botanique

La *fougère mâle*, *polypode mâle* ou *Dryopteris filix-mas*, de la famille des Fougères , C'est une plante vivace de 30 cm à 1 mètre de hauteur. Limbe deux fois divisé, réduit à la base, à pennes inférieurs symétriques, rachis et axes des pennes peu écailleux, entièrement verts, sans tache à leur point de jonction, pinnules dentées, à dents aiguës, limbe non glanduleux et indusies longuement Persistentes. Sores assez gros, peu nombreux légèrement écartés de la nervure médiane (**bavota, 2011 ; Foulter et Canu, 2010 ; Nathalie, 2011**).

I-5-2- Répartition géographique

Cette fougère croît en abondance dans les lieux frais, les haies ou les bois, où elle forme parfois de belles touffes. Elle est commune en France sauf dans le sud-ouest et méditerranéenne, on trouve aussi en montagne jusqu'à plus de 2 000 mètre (**Delachaux et Niestlé, 1977; Foulter et Canu, 2010 ; Nathalie, 2011**).

I-5-3- Noms vernaculaires

Selon **Bonet et al. (2001) et Nathalie(2011)** les noms vernaculaire sont :

Noms communs: *Fougère mâle, Porte aigle, pétris, filière*

Nom latin: *Dryopteris filix-mas*

Nom anglais: Male fern ou Common male fern

Nom Arabe : Asarkhas (**Djerroumi et Nacef, 2004**)

I-5-4- Classification systématique

Selon **Auger et Laporte-Cru (1982)** *Dryopteris filix-mas* classée comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Pteridophyta

Classe : Filicopsida

Ordre : Polypodiales

Famille : Dryopteridaceae

Genre : *Dryopteris*

Espèce : *Dryopteris filix-mas L.*

I-5-5- Composition chimique

Selon **bavota (2011) ; Bonet et al.(2001) et Nathalie (2011)** . Le rhizome renferme :

- glucides : notamment des oses et des osides (amidon)
- lipides : plus particulièrement des acides gras tels que l'acide caprylique, l'acide oléique, l'acide palmitique, l'acide cérotique et l'acide butyrique.
- matières minérales.
- composés phénoliques : constitués de flavonoïdes dont des tanins condensés : tanins catéchiques (7 à 8 % d'acide filicotannique et acide protofilicotannique), des terpénoïdes : triterpènes : stéroïdes (phytostérol)
- vitamines B.
- traces d'huiles essentielles.

I-5-6- Effets thérapeutiques

La composition chimique fait que la *fougère mâle* est utilisée dans le traitement des douleurs rhumatismales (goutte et arthrite) et en cosmétique pour des propriétés astringentes et tonifiantes (produits capillaires, pour le corps et soins du visage (**bavota, 2011**)).

La *fougère mâle* est très efficace contre le ver solitaire (*taenia saginata*) et le bothriocéphale, mais moins, semble-il contre le *ténia armé* (*taenia sodium*).

La *fougère mâle* est abortive (substances dont l'absorption passe pour provoquer l'avortement, et des stratégies destinées à interrompre la grossesse), anti- microbienne, antivirale, détergente (**Djerroumi et Nacef, 2004 ; Nathalie, 2011**).

1-Stress oxydatif

1-1-Définition du stress oxydatif

Dans des conditions physiologiques, la production des ROE est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : on dit que la balance anti-oxydants / pro-oxydants est en équilibre (**Halleng et al ., 2011**). La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (**Mette, 2006**).

1-2-Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Borel et al.,1997;Halliwell, 2011**) sur l'orbite électronique la plus externe (**Stiger-Pouvreau,2006**), qui leur confère une grande réactivité (**Goudable et Favier, 1997; Halliwell, 1996**). Ces molécules instables, réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisent à leurs tours, et induisent ainsi des réactions en chaînes. Les radicaux libres provoquent notamment des dommages sur l'ADN, les protéines et les lipides membranaires (**Menvielle-Bourg, 2005**). Les dommages provoqués par ces derniers sont à l'origine de nombreuses maladies telles que : le cancer, les maladies cardio-vasculaires et les dysfonctionnements du cerveau (**Bidie et al., 2011 ; Fusco et al., 2007 ;Sies et al., 1992**).

1-3-Espèces réactives de l'oxygène

Espèce réactive de l'oxygène (ROE) est un terme collectif utilisé pour un groupe d'oxydants, qui sont les radicaux libres ou les espèces moléculaires capables de produire des radicaux libres (**Amit et Priyadarsini K.I, 2011**), inclut les radicaux libres issus de la réduction partielle de l'oxygène (**Brambilla et al., 2008**) : radical superoxyde (O_2^-), radical (OH), ainsi que certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui peut être généré par des réactions enzymatiques et non enzymatiques dans la cellule et dans la membrane cellulaire (**Chaher, 2006 ;Halliwell et Gutteridge, 1989**).

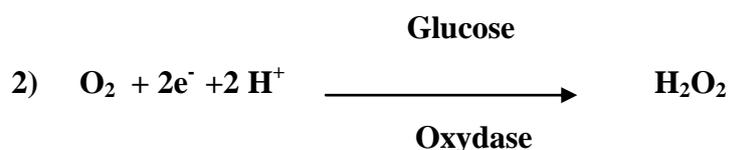
1-3-1-Exemples d'espèces réactives de l'oxygène

A-Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi le radical superoxyde (**Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Hadi, 2004**). Ce dernier participe à l'inactivation des virus et des bactéries (**Goudable et Favier, 1997**). Il n'est pas très réactif mais il constitue un précurseur d'autres espèces plus réactives, donc il intervient comme facteurs oxydants dans de nombreuses réactions (**Favier, 2003**).

B- peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Ce n'est pas un radical libre proprement parler mais une molécule car tous ses électrons périphériques sont appariés (**Belkheiri, 2010**), généré soit par dismutation du radical superoxyde (réduction univalente de l'anion superoxyde), par la super oxyde dismutase (SOD) (**Valko *et al.*, 2006**). (Réaction 1), soit par la réduction bi électronique de l'oxygène catalysée par des enzymes comme le glucose oxydase (**Chaher, 2006 ; Halliwell *et al.*, 2011**). (Réaction 2)

C- radical hydroxyle (OH^{\cdot})

En raison de leur extrême réactivité, les radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}) sont les ROS les plus Toxiques ils diffusent peu et réagissent très rapidement avec des molécules voisines très proches. Puissants agents oxydants, ils s'attaquent à la plupart des molécules organiques et inorganiques présentes dans les cellules, parmi lesquelles l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés, (**Barus, 2008**).

Le radical hydroxyle est formé par la réaction de Fenton à partir de la transformation du peroxyde d'hydrogène en présence de métaux de transition tels que le Fe^{2+} . Le radical

hydroxyle formé est très oxydant, et c'est le radical le plus dangereux pour l'organisme car il peut initier une peroxydation lipidique en chaîne (Goudable et Favier, 1997; Ré *et al.*, 2005).



1-4-Sources des radicaux libres

Les sources des radicaux libres peuvent être d'origine endogène ou exogène, le tableau ci-dessous résume ces dernières :

Tableau I : Les principales sources des radicaux libres (Tacchini et Schriener, 2005)

Endogène	Exogène
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mitochondries. ▪ Phagocytose. ▪ Xanthine oxydase. ▪ Métaux de transition. ▪ Peroxysome. ▪ Exercice physique. ▪ Inflammation. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cigarette ▪ Radiations ionisantes ▪ Pollutions diverses ▪ Rayonnement UV ▪ Produits chimiques et médicaments ▪ Microorganismes et infections

2- Les antioxydants

2-1-Définition

Le terme "antioxydant" se rapporte à toute substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient. Les antioxydants ont la capacité de contrecarrer les effets préjudiciables des radicaux libres dans les tissus en empêchant ainsi des dommages oxydants à une molécule cible et en protégeant le système biologique. Ils peuvent être des molécules simples ou complexes (Bandyopadhyay *et al.* 2007 ; Berger, 2006 ; Gutteridge et Helliwell, 2010).

2-2 - Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur origine en antioxydants endogènes ou exogènes. Les antioxydants endogènes sont des enzymes dont les plus connues sont produites dans le corps humain (Mates, 2000). Les antioxydants exogènes sont des antioxydants qui peuvent provenir des composés qui se produisent, naturellement, dans les produits alimentaires ou des substances formées pendant leur traitement (Pratt et Hudson, 1990).

Les antioxydants peuvent être classés également selon leur mode d'action (Rolland, 2004) et leurs natures lipophile ou hydrophile, ce qui est appelé la classification fonctionnelle. Cette

dernière indique la localisation préférentielle des antioxydants (Afonso et al, 2007 ; Cornelli, 2009 ; Durackova, 2008).

2-3 -Système de défenses non enzymatiques

2-3 -1- Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires abondant dans les plantes, dont la structure comporte un cycle phénolique auquel sont rattaché des substituants hydroxyles. Cette structure leur confère des propriétés antioxydantes importantes (Blokhina et al.; 2002 ; Vattem et al.; 2004).

Les composés phénoliques sont devisés en trois groupes :

- les acides phénoliques dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (C₆-C₁).
- les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.
- les esters phényles propanoïdes glycosidiques (Skerget et al., 2005).

L'activité antioxydante des polyphénols provient de leur haute réactivité. Ils agissent comme donneurs de protons ou d'électrons, il chélates les métaux de transition. De plus les dérivés des polyphénols sont stables (Blokhina et al.; 2002).

2-3 -2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols très répandus dans le règne végétal avec plus de 8000 composés chimiques distincts identifié, dont plusieurs possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire, anticarcinogéniques et préventives de maladies cardiovasculaires (Erlund ,2004 ; Wang et Mazza, 2002).

Les flavonoïdes sont des dérivés des benzo- γ -pyranes (figure 6). Ils se trouvent comme aglycones, glycosides ou des dérivés méthyles. Ils sont classés selon leur degré d'oxydation en plusieurs classes: flavones, flavonones, isoflavanes, flavanes, flavanoles et anthocyanines. Le cycle pyrane peut être ouvert (chalcones) ou recyclé en cycle furone (aurone) (Skerget et al., 2004).

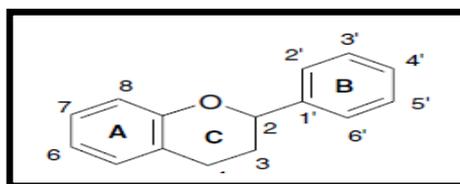


Figure 1 : Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000).

2-3 -2-1- Flavonols

Ils ont une teinte jaune en générale, et sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Parmi les flavonols les plus répandus on trouve le quercétol et le myricétol (Figure 7) (Marc *et al.*; 2004).

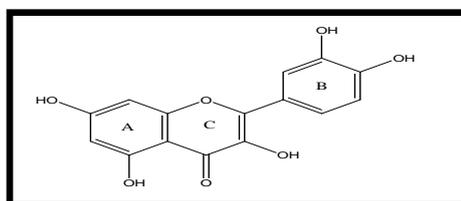


Figure 2 : Structure de la quercetine (Marc *et al.* 2004).

2-3-2-2- Flavones

Ce sont des composés flavonoidiques qui se trouve en quantité moindre que les flavonols dans les fruits et légumes. La lutéoline et l'apigénine (Figure 8) ont une structure de base de type flagorne, dont les principales sources récemment identifiées sont le persil et le céleri (Manach *et al.*, 2004).

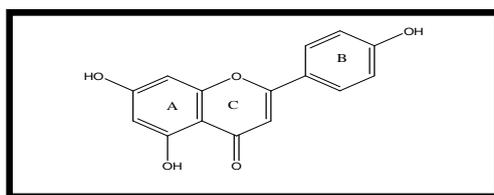


Figure 3 : Structure de l'apigénine (Manach *et al.*, 2004).

2-3 -2-3- Flavanes

C'est un groupe important avec des constituants monomères, en particulier les catéchines (Figure 9) et les polymères formant les proanthocyanidines (Manach *et al.*, 2004). Ils désignent l'ensemble des produits naturels ayant la structure flava-3-ol possédant le radical (OH) sur leur noyau latéral (Ribéreau-Gayon, 1968), en revanche, les catéchines se trouvent dans beaucoup d'écorces végétales à qui elles confèrent une saveur astringente (Delaveau, 1988).

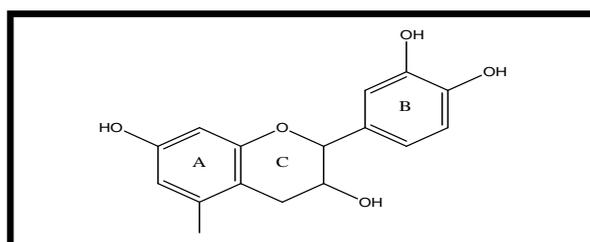


Figure 4 : Structure de la catéchine (Manach *et al.*, 2004)

2-3 -2-4-Isoflavones

Ce sont des flavonoïdes présentant des similitudes structurales avec les œstrogènes. Ils ont des groupements hydroxyles dans les positions 7 et 4', dans une configuration analogue à celle des hydroxyles dans la molécule génistéine (Manach *et al.*, 2006).

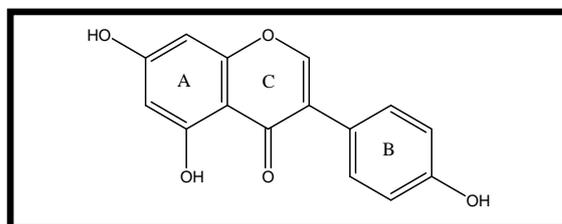


Figure 5 : Structure de la génistéine (Manach *et al.*, 2006)

2-3 -2-5- Anthocyanes

Ce sont des pigments solubles dans le suc vacuolaire des tissus épidermiques des fleurs et fruits, auxquels elles confèrent la coloration rouge en milieu acide, virant dans le bleu en milieu alcalin et dans certaines conditions forment des complexes avec les métaux (Kowalczyk *et al.*, 2003 ; Ribereau-Gayon, 1968). Ces composés phénoliques sont dérivés de flavylum (2phényl-benzopyrylium), ils portent des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (Mazza G, 2007), le plus répandu est la cyanidine (Figure 11) (Manach *et al.*, 2004).

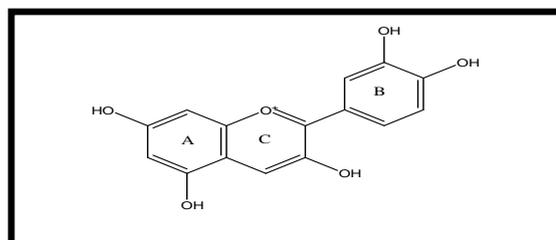
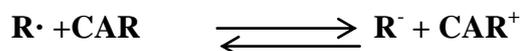


Figure 6 : Structure de la cyanidine (Ghedira, 2005)

2-3 -3-Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une classe de pigments liposolubles naturels présents principalement dans les plantes, les algues et les bactéries photosynthétiques (Curtay et Robin, 2000 ; Steins E, 2009 ; Stéphanie, 2005) qui contiennent une chaîne centrale hydrocarbonée en C18, hautement polyinsaturée où s'alternent des simples et des doubles liaisons portant quatre groupements méthyles, et deux cycles en C6 situés à chacune des extrémités de cette chaîne. Ils sont synthétisés par des plantes et beaucoup de microorganismes, et ils sont responsables de la couleur jaune, orange ou rouge d'une large gamme d'aliments (Antonio *et al.*, 2007; Niizu et Rodriguez-Amaya, 2005 ; Quiros et Costa, 2006).

Aussi bien que leurs propriétés de colorant, les caroténoïdes sont connus pour avoir plusieurs autres fonctions biologiques, telles que leurs action comme provitamine A et leurs propriétés antioxydantes en réagissant avec les radicaux libres selon la réaction qui suit (Dutta *et al.*, 2005 ; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007 ; Zanatta et Mercadante, 2007).



Les caroténoïdes peuvent offrir une protection vis-à-vis de certaines maladies telles que les maladies cardio-vasculaires, certains cancers, la cataracte et la dégénération musculaire (Antonio *et al.*, 2007 ; Hale, 2003 ; Niizu et Rodríguez-Amaya, 2005 ; Stein E, 2009; Zanatta et Mercadante, 2007).

Les structures des principaux caroténoïdes sont montrées sur la (figure 12).

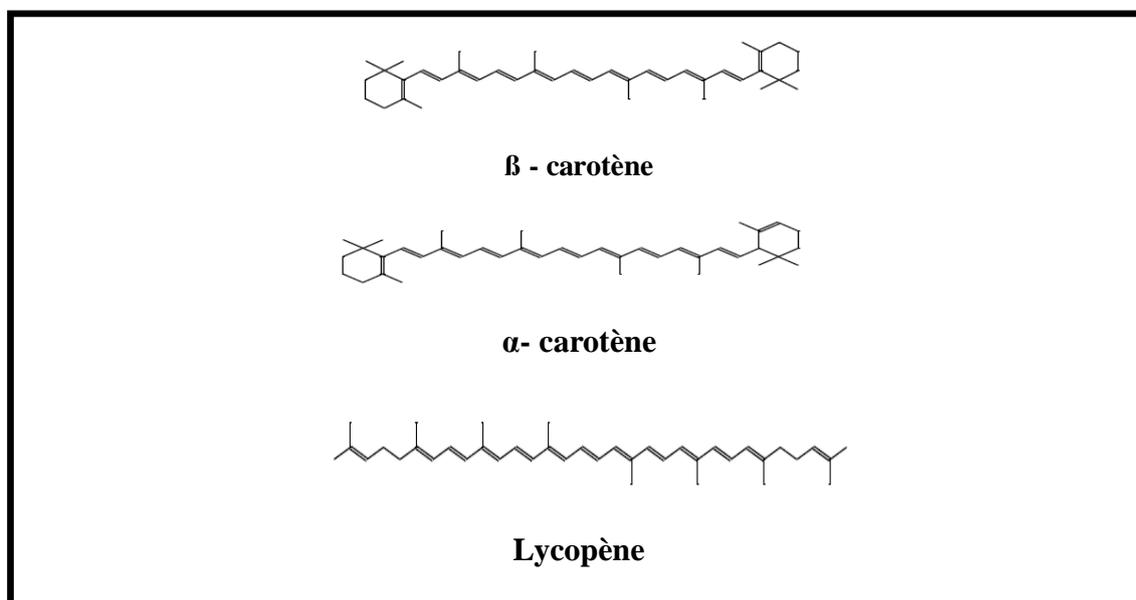


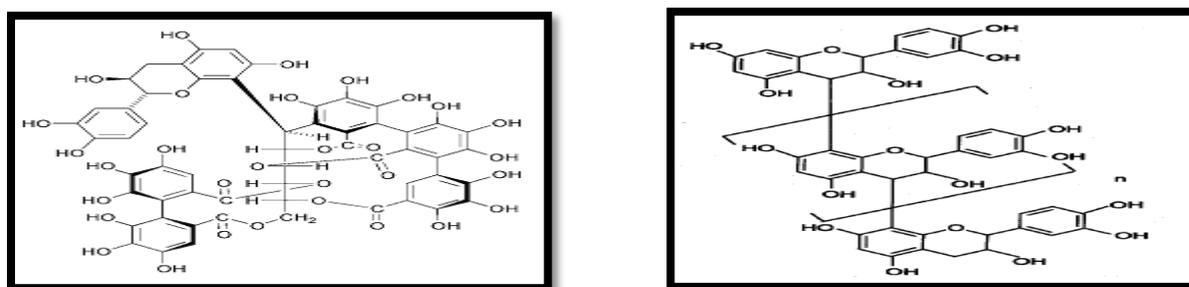
Figure 7: Structures chimiques de quelques caroténoïdes (Lausanne, 2010)

2-3-4-Tannins

Les tannins sont des polyphénols d'origine végétale (Berthod *et al.*, 1999 ; Khanbabaee *et al.*, 2001) existant dans presque chaque partie de la plante écorce, bois, feuille, fruits et racine. Leur poids moléculaire s'étendant de 500 à 3000 Dalton (Cowan., 1999), ils sont divisés en deux groupes :

- ✓ tanins hydrolysables, résultant d'esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique ou de l'acide ellagique (figure 14 a).

- ✓ tanins condensés ou proanthocyanidines, non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudo colloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois (figure 13b) (Cowan., 1999 ; Oszmianski *et al.*, 2007 ; Skerget M ; 2005).



a): Structure d'un tanin hydrolysable.

b): Structure de base d'un tanin condensé.

Figure 8 : Exemple d'un tanin condensé et d'un tanin hydrolysable (Anders, 2002 ; Cowan, 1999).

2-3 -5-Vitamines

2-3 -5-1-Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur. C'est un très bon capteur de radicaux libres (Curtay et Robin, 2000 ; Gardes-Albert *et al.*, 2003). La vitamine C est un excellent piègeur en neutralisant les EOR dans la phase aqueuse avant l'initiation de la peroxydation lipidique. Elle peut protéger divers substrats biologiques tels que les protéines, les acides gras et l'ADN de l'oxydation. Ce composé joue un grand rôle en générant la vitamine E à partir de sa forme radicalaire issue de la réaction entre les lipides et la vitamine E (Paule Nathan ; 2009). La structure chimique de la vitamine C est représentée sur la (figure 14).

Les principales sources de vitamine C sont les fruits et les légumes, en particulier le cassis, les agrumes, le kiwi, les poivrons, les brocolis, le chou et le persil (Pelli et Lyly, 2000).

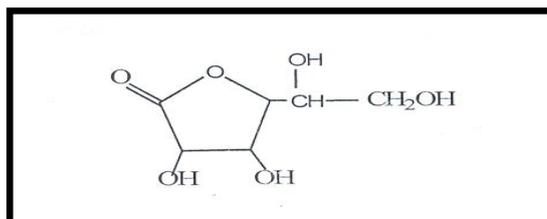


Figure 9 : Structure chimique de la vitamine C (Percival, 1998).

2-3 -5-2- Vitamine E

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature. Parmi eux les tocophérols (α -, β -, γ - et δ -) et les tocotriénols (**Curtay et Robin, 2000**).

C'est l' α -tocophérol qui est biologiquement le plus efficace. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein de la membrane biologique riche en acides gras polyinsaturés ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les (EOR) (**Pincemail et al., 1998**). Cette molécule agit comme piègeur des radicaux libres et inhibe la peroxydation. Elle a un effet protecteur sur plusieurs types de cancers tel que le cancer du poumon, de l'utérus et du colon (**Tamimi et al., 2002**).

La vitamine E n'est synthétisée que dans les plantes, celle-ci doit être apportée par l'alimentation. Elle est présente dans les huiles végétales, les pépins, les germes et les grains de blé (**Pelli et Lyly, 2000**).

2-3 -6- Oligo-éléments

- ❖ **Zinc (Zn)** : Il agit en tant que constituant ou cofacteur pour plus de 300 métalloenzymes telles que le superoxyde dismutase dans laquelle il joue un rôle structural (**Bruno et al., 2007 ; Duzguner et Kaya, 2007**).
- ❖ **Sélénium** : coenzyme de la glutathion oxydase (**Curtay et Robin, 2000**). La viande et les produits laitiers, les œufs et les produits à base de blé constituent de bonnes sources de ce nutriment (**Pelli et Lyly, 2003**).
- ❖ **Cuivre** : coenzyme de superoxyde dismutase (SOD) (**Goussard, 1999**). Les principales sources alimentaires de cuivre sont les céréales, les légumes et les produits laitiers (**Pelli et Lyly, 2003**).

I-Traitement des échantillons

I-1-Taux d'humidité

Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des polyphénols, car les cellules végétales contiennent différents types d'enzymes, susceptibles de provoquer des modifications des composés phénoliques contenus dans le matériel végétal, en particulier des polyphénols-oxydases et des glycosidases. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage du matériel végétal, aussitôt après sa récolte (**Ribéreau-Gayon ,1968**). Dans ce cas-là le matériel végétal séché, peut être conservé pendant un certain temps sans modifications importantes (**Owen et Johns, 1999**).

Les résultats du taux d'humidité des différents échantillons sont représentés sur la figure 13 :

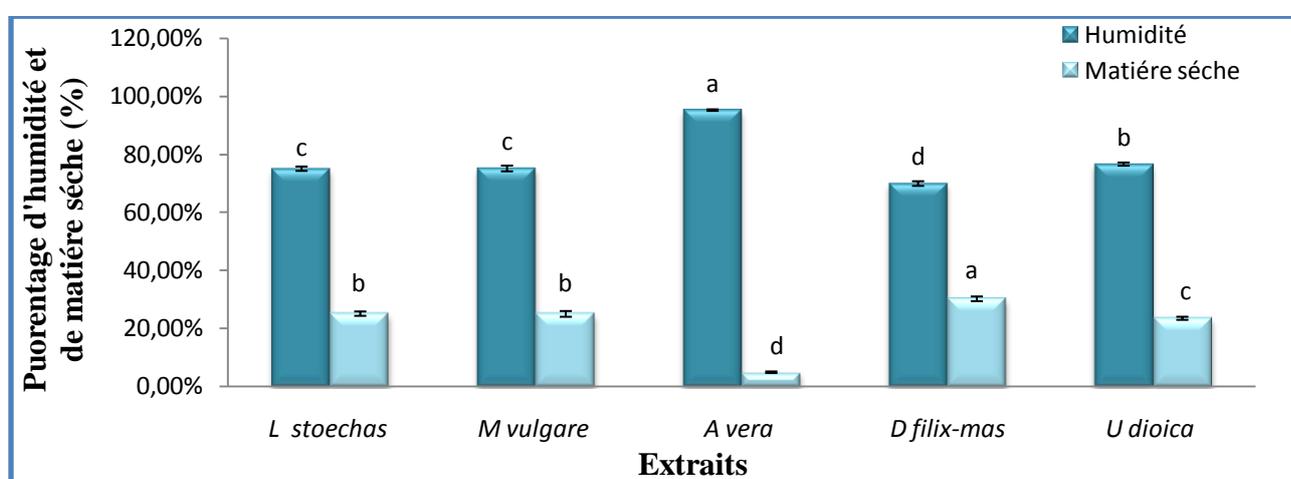


Figure 13: Pourcentage d'humidité et de matière sèche des feuilles de plantes étudiées

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais (n=3).

Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives ($p < 0.05$).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c > d$.

Les barres verticales représentent les écarts-types

Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas une différence significative

Selon les résultats obtenus, les teneurs en eau des feuilles de cinq plantes étudiées sont comprises entre 69,87 % et 95,19%. Ceci indique leur richesse hydrique, tandis que la matière sèche ne dépasse pas 30,13% du poids totale des feuilles.

Nous constatons d'après les résultats obtenus que : l'*Alès vera* est le plus riche en eau avec un taux évalué a 95,19% ; une étude réalisée par **Vega-Galvez et al, (2011)**, a montré que la teneur en eau de l'*Aloès vera* est comprise entre 98 - 99% ,l'*Urtica dioica* présente aussi une proportion considérable de 76,56% qui est similaires a celle trouvée par **Draghi (2005)** 76,76%, suivit par *Marrubium vulgare* avec un taux de 75,07% , supérieur au résultat menés par **Bouterfa et al, (2013)** 40,32%, la même espèce de la région d'Amizour possède un taux

de 77,68%, similaire a celle obtenue dans notre étude , *Lavandula stoechas* avec un taux de 74,99%, supérieur a celui noté par **Mohammedi (2006)** 52,5% , enfin *Dryopteris filix-mas* avec le taux le plus bas 69,87%, qui est inférieur au taux estimé par **Li (2012)** qui a travaillé sur une plante du même genre *Dryopteris fragrans* ,où il a enregistré un taux de 51%. Selon **Ribéreau-Gayon (1968)**, cette différence peut être due ; aux variations des facteurs environnementaux des régions.

I-2-Taux d'extraction

Malgré le développement de la mise en œuvre de nombreuses techniques d'extraction, l'extraction classique par solvant demeure dominante et de loin la plus utilisée dans les laboratoires (**Druzynska et al., 2007**), l'éthanol étant connu pour être le solvant par excellence de l'extraction des polyphénols, ce dernier a donc été utilisé dans l'étape de l'extraction de la présente étude.

Les résultats d'extraction sont illustrés sur la figure14 :

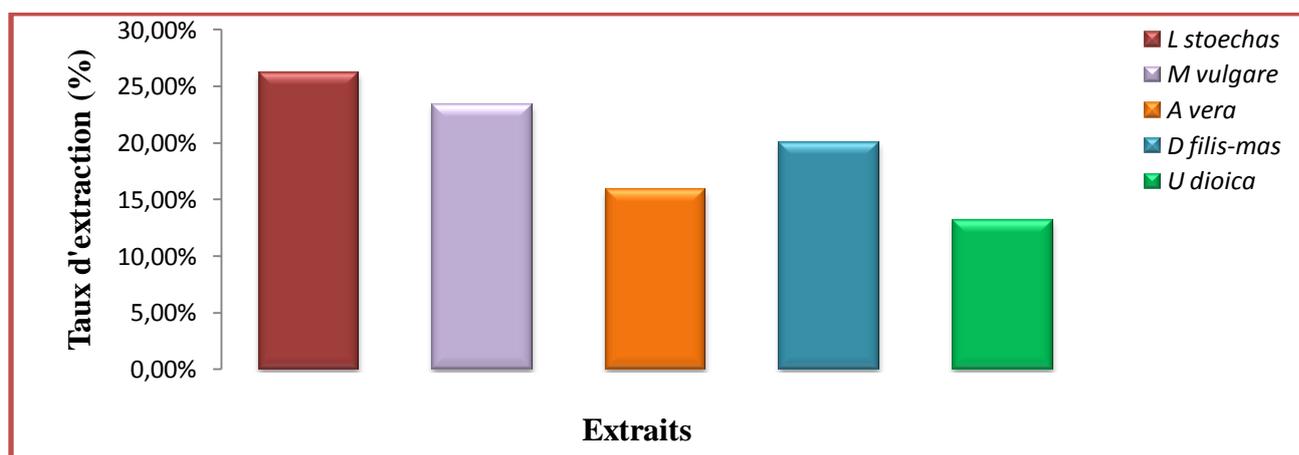


Figure 14 : Taux d'extraction des échantillons étudiés

Les valeurs obtenues, montrent une variabilité des rendements pour les extraits des plantes étudiées. En comparant les résultats obtenus ; *Lavandula stoechas* a présenté le rendement le plus élevé 26,20%, supérieur à celui apporté par **Smain et al, (2012)** 12,9%, qui ont travaillé sur les fleurs de la même espèce. Cependant **skerget et al ,(2005)** ont trouvés le même rendement 26,2% en travaillant sur les feuilles d'*Origanum Glandulosum Desfqui* (de même famille). Pour *Marrubium vulgare* notre résultat est légèrement supérieur a ceux apportés par **Al-Bakri et Afifi (2007)** qui sont de 23,4% et de 20% . **Pavela (2004)** a obtenu un taux de 27,2 % avec l'extrait méthanolique de la même espèce.

Les taux obtenus pour *Dryopteris filix –mas*, *Aloès vera* sont respectivement 20,10%, 15,90%, alors que *l'Urtica dioica* a donné le rendement le plus bas 13,20%.

Un tel résultat peut être du à : la composition chimique qui diffère entre les cinq plantes ou à la différence de solubilité des constituants biochimiques des plantes dans le solvant d'extraction (Mau *et al.*, 2005), la méthode utilisée, la granulométrie, le temps d'extraction, la température (la température croissante favorise l'extraction en augmentant la solubilité du corps dissout et en élevant le coefficient de diffusion, mais elle peut causer la diminution du taux des composés phénoliques), les conditions de stockage ,la présence de substances interférentes, le type du solvant employé et le nombre d'extraction (Atmani *et al.*, 2009 ; Chehar, 2006 ; Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003 ;Silva *et al.*, 2007).

I-3-Dosage des antioxydants

I-3-1- Polyphénols totaux

La méthode de dosage des polyphénols totaux utilisant le réactif folin- ciocalteu est une analyse rapide, qui est couramment utilisée pour étudier tout le contenu phénolique des matières végétales (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

Une des caractéristiques des polyphénols, qu'ils partagent généralement avec l'ensemble des métabolites secondaires ; est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales (Bouterfa *et al.*, 2013) .

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des échantillons étudiés sont représentés sur la figure 15:

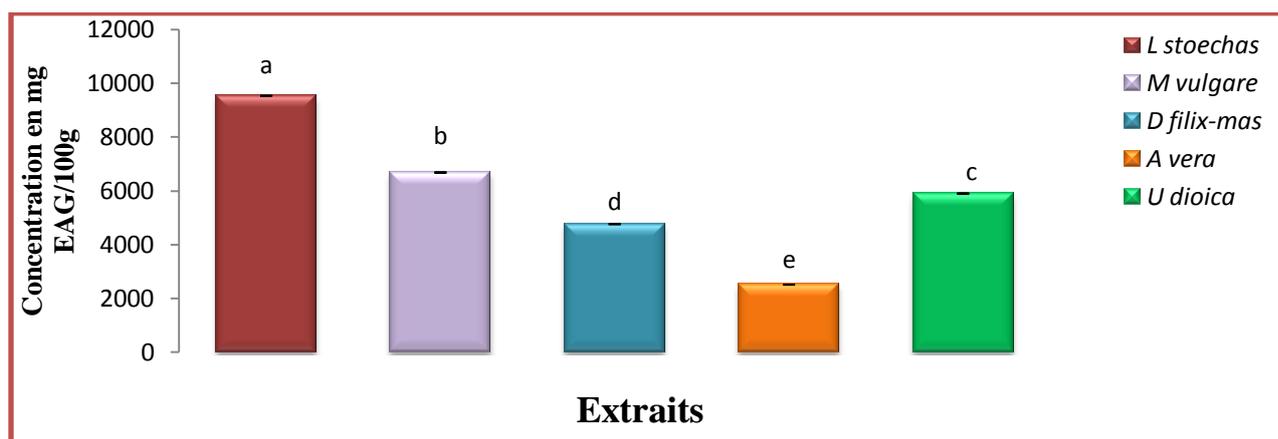


Figure 15: Teneurs en polyphénols totaux des extraits

Les résultats obtenues dans la (figure 15), révèlent que l'extrait éthanoliques de *Lavandula stoechas* est le plus riche en polyphénols totaux, avec une teneur 9528,54±1,55mg EAG/100g ES en comparaison aux autres extraits.

Cette dernière est supérieure à celle estimée avec la même espèce, en utilisant le même solvant $6850 \pm 0,7$ mg EAG/100g ES, mais de région différente (Sétif), de même pour celle trouvée par **Bouayad et al, (2007)** $1620 \pm 0,02$ mg/100g.

La teneur observée chez *Marrubium vulgare* est de $6678,66 \pm 1,66$ mgEAG/100gES supérieure à celle trouvée par **Moussaid et al,(2011)** où ils ont obtenu une valeur de $2420 \pm 2,59$ mg/100gES, et à celle de **Matkowski et Piotrowski (2006)**

$2350 \pm 2,1$ mg/100gES, suivit de *Urtica dioica* qui montre une teneur de $5897,03 \pm 0,53$ mgEAG/100gES, elle est faiblement inférieure à celle estimée par **Kaledaite et al,(2011)** $5960 \pm 0,7$ mg/100gES, *Dryopteris filix -ma* $4761,8 \pm 2,09$ mgEAG/100ES.

La teneur la plus faible en polyphénols totaux étant observée chez *Aloès vera* $2510,28 \pm 4,41$ mgEAG/100gES supérieur aux résultats menés par **Monirrozzaman (2012)** $1138 \pm 0,94$ mg/100gES.

La quantité en composés phénoliques des extraits éthanoliques des plantes dépend essentiellement: de leurs origines, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, du solvant d'extraction, la maturité de la plante et la durée de conservation **Zegade (2009)** et du choix du standard **Atmani et al,(2009)**.

I-3-2- Flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes des extraits étudiés sont représentés sur la figure 16 :

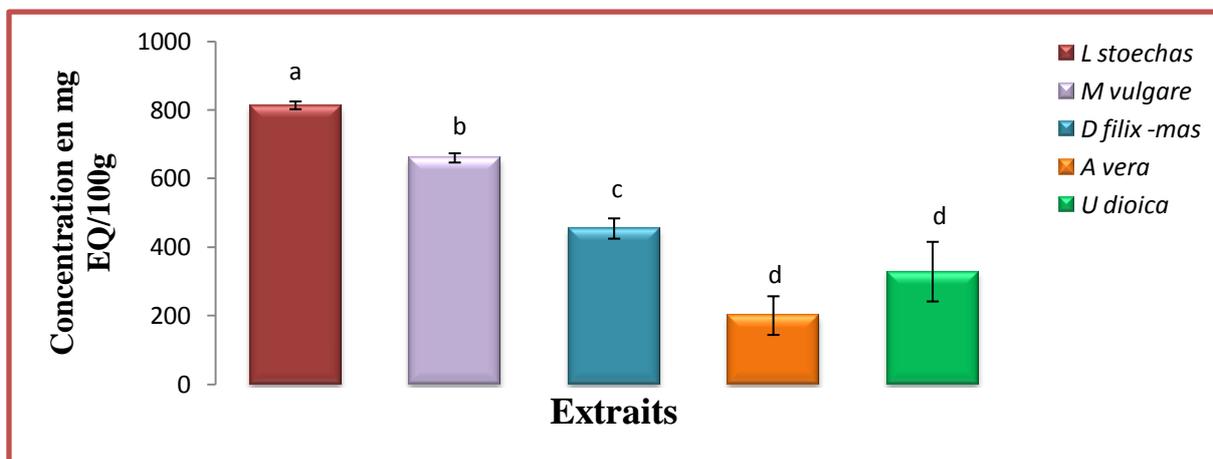


Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes des extraits.

On remarque d'après la (figure16) que les teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés montrent des proportions considérables, qui diffèrent d'une plante à l'autre.

Selon **Herrmann (1988)**, les concentrations les plus importantes des flavonoïdes et des flavonols sont accumulées dans la partie aérienne des plantes, qui est exposée à la

Lumière du soleil.

Elle varie aussi selon la famille de la plante, et la partie utilisée **Touati (2009)**, c'est ce qui est démontré dans la présente étude.

Des teneurs plus importantes en flavonoïdes sont observées chez *Lavandula Stoechas* 813,4mgEQ/100g ES, supérieur à celle trouvé par **Touati (2009)** 300mg/100g et **Mohammedi (2006)** 88,00mg/100g respectivement .

Marrubium vulgare montre aussi un taux important 659,94mgEQ/100gES, qui est deux fois inférieur au taux mené par **Moussaid et al ,(2011)** 1318 mg/100g , *Dryopteris filix-mas* 453,91mgEq/100gES qui présente 1/3 de l'extrait méthanolique trouvé par **Skender et al , (2012)** 12680mg/100g , *Urtica dioica* avec une concentration de 328,12mgEq/100gES. Une étude réalisée par **Guder et Kormaz (2012)**, a montré que la teneur de *l'Urtica dioica* en flavonoïde est de 1030-1910 mg EQ/100g, ces valeurs sont largement supérieures avec celle obtenue dans la présente étude.

Le taux le plus faible est observé avec l'extrait éthanolique de *l'Aloès vera* 199,99 mg EQ/100gES et qui est inférieur au taux estimé par **Ozsoy et al, (2009)** 363mgEQ/100g.

I-3-3- Flavonols

Les résultats de dosage des flavonols sont représentés sur la figure17 :

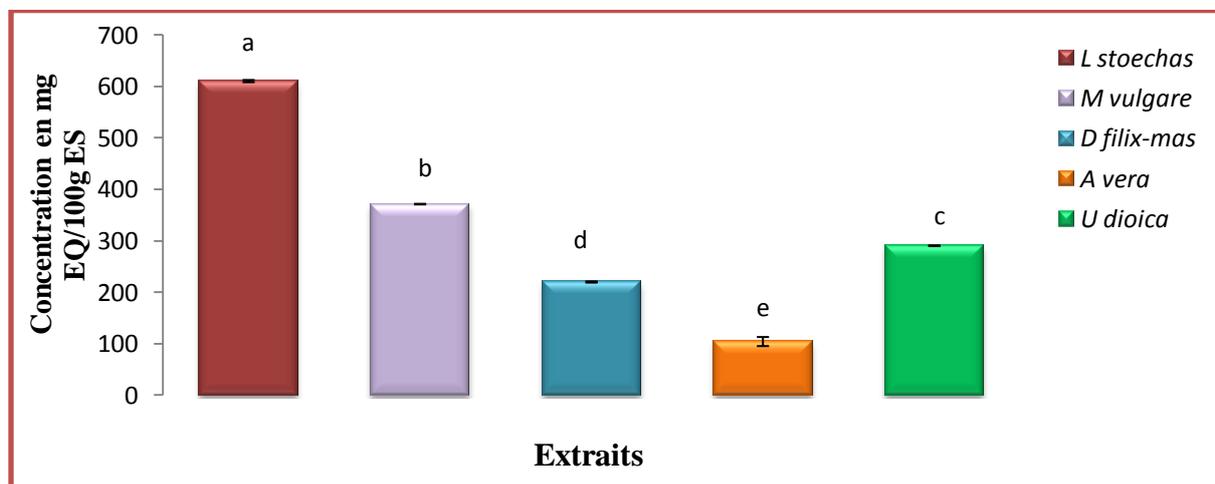


Figure 17: Teneur en flavonols des extraits étudiés.

Les teneurs en flavonols des extraits analysés, sont significativement différentes selon la l'espèce. Les teneurs obtenues sont variables, où la plus élevée est atteint avec l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* 610,56 mg EQ/100g ES, et la plus basse par l'extrait

éthanolique de *l'Aloès vera* 104,5mg EQ/100g ES, qui est proche de la teneur obtenue par **Bushra et Farooq (2008)** 163,6±32,7mg /100g ES.

Marrubium vulgare, *Urtica dioica* et *Dryopteris filix-mas*, présentent aussi des teneurs Concidérables en flavonols qui sont respectivement 371,5mg EQ/100g ES, 290,67mg EQ/100g ES et 220,23mg EQ/100g ES.

I-3-4- Tannins

Les résultats de dosage des tannins sont représentés sur la figure 18 :

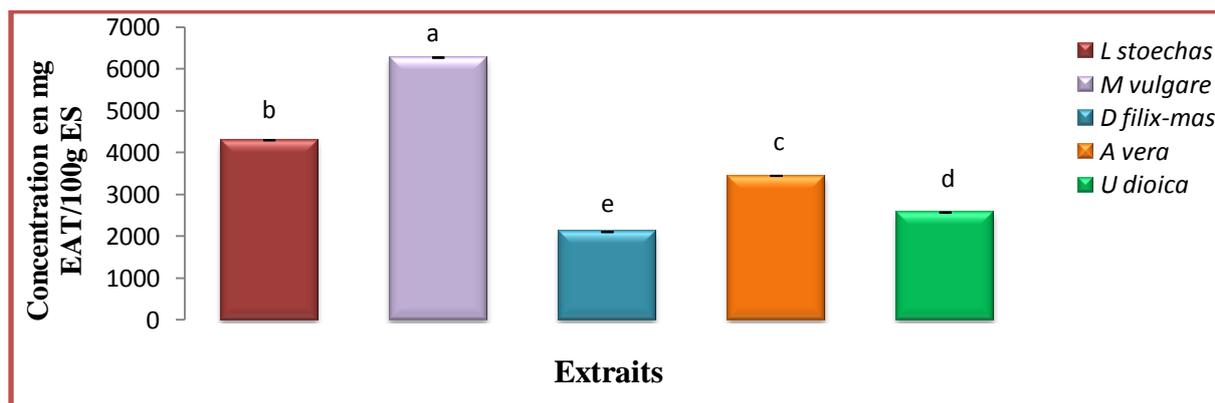


Figure 18 : Teneurs en tannins des extraits.

D'après la (figure 18), on peut constater la richesse de ces plantes en tannins, qui peut être liée au solvant d'extraction (l'éthanol).

Ceci est en accord avec une étude faite par **Naczka et al, (2006)**, qui ont démontré que les extraits de plusieurs espèces de plantes avec l'éthanol exhibent des taux élevés en tanins.

Selon **Bezanger-Beauquesne (1990)** ;**Bouterfas et al, (2013)** et **Valenet (1992)**, *Marrubium vulgare* est très riche en tannins, et qui peut être attribuer la diversité de sa composition chimique (Tanins condensés et tanins hydrolysables) , qui est le cas dans la présente étude, où on a obtenu la plus grande concentration 6275,51mgEAT/100gES en l'a comparant aux autre plantes. Cette valeur est légèrement inférieure à celle obtenu avec la même espèce de région différente en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol 6580mgEAT/100gES (Région d'Amizour).

L'espèce *Aloès vera* présente aussi une teneur remarquable 4447,12mg EAT/100gES, puis *Lavandula stoechas* 3299,96mg EAT/100gES, *Urtica dioica* 2569,34mg EAT/100gES et *Dryopteris filix-mas* 1969,67mgEAT/100gES suivant un ordre décroissant,

I-3-5- Anthocyanines

Les anthocyanines sont des métabolites phénoliques de plantes, appartenant à la famille des flavonoïdes. Ce sont des pigments hydrosolubles responsables des couleurs rouges, bleues, et pourpres de la plupart des fleurs et fruits (Kosir *et al.*, 2004). Les propriétés antioxydantes des anthocyanines résultent de leur réactivité élevée comme donneur d'hydrogène ou d'électron (Duan *et al.*, 2007).

Les résultats de dosage des anthocyanines sont représentés sur la figure 19 :

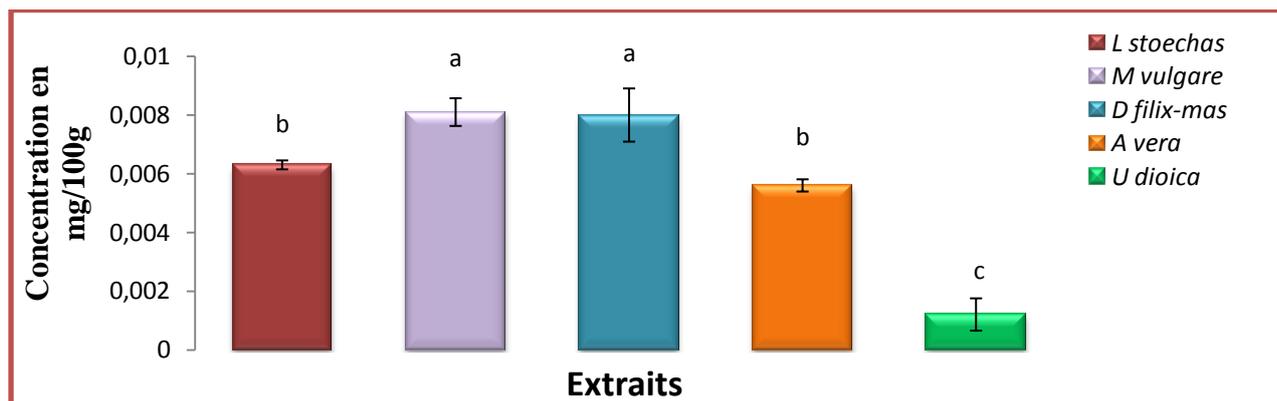


Figure 19: Teneur en anthocyanines des extraits.

La (figure 19) montre que les extraits éthanoliques étudiés présentent des teneurs très faibles en anthocyanines. Ces derniers sont des composés très sensibles ; plusieurs facteurs peuvent les déstabiliser (la température élevée, le pH, la lumière, la structure de l'anthocyanine) (Araceli *et al.*, 2009).

En comparant les teneurs obtenues, *Marrubium vulgare* et *Dryopteris filix-mas* présentent statistiquement même teneurs avec 0,0081mg /100gES et 0,008mg/100gES respectivement. *Lavandula stoechas* et *l'Aloès vera* avec des concentrations de (0,0063mg/100gES) et 0,0056mg/100gES respectivement et enfin *l'Urtica dioica* qui possède la teneur la plus basse 0,0012mg/100gES.

I-3-6- Caroténoïdes

Les résultats de dosage des caroténoïdes sont illustrés sur la figure 20:

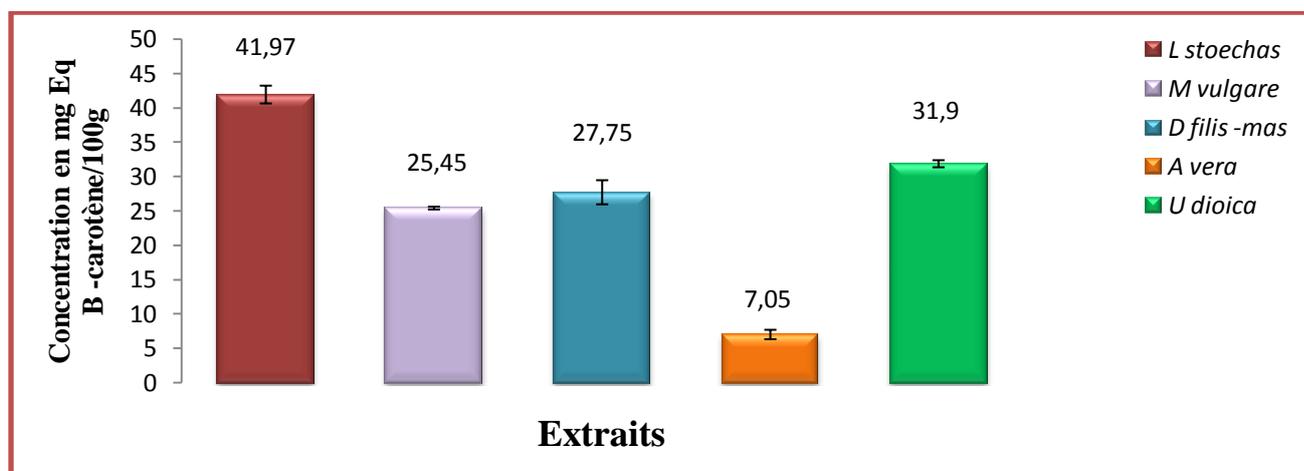


Figure 20 : Teneurs en caroténoïdes des extraits de plantes.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la quantité des extraits en caroténoïdes est comprise entre 7,03 et 41,97 mg/100gES, exprimée en mg de β -carotène/100g de l'extrait sec. La teneur la plus élevée a été enregistrée avec l'extrait éthanoliques de *Lavandula stoechas* 41,97mg/100gES, qui est inférieur au résultat de **Touati (2009)**, où elle a estimée une teneur de 59mg/100g ES. Suivi de l'*Urtica dioica* 31,9mg/100g, inférieur inférieur a la valeur estimée par **Biesiada et al, (2009)** 74 mg/100g de ES, puis les deux extraits éthanoliques de *Dryopteris filix-mas* et *Marrubium vulgare* 27,75mg/100g et 25,45mg/100g respectivement. **Stulzer et al, (2006)** ont constatés une teneur de 136,1mg /100g ES pour *Marrubium vulgare*, qui est nettement élevée par rapport a celle obtenue dans la présente étude.

Enfin l'*Aloès vera* avec la plus petite teneur 7,05 mg/100g qui présente une légère différence avec celle obtenu par **Ozsey et al, (2009)** 1,551mg/100g qui ont travaillé sur les fleurs de la même espèce.

Le faible taux des caroténoïdes dans les extraits des cinq plantes, peut être expliqué soit par : leur faible teneur en ce colorant, néanmoins il y a l'influence de la lumière, donc ce dernier doit être effectué très rapidement, évitant l'exposition à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées et aux métaux peroxydant , tels que le fer et le cuivre, afin de réduire au minimum l'auto-oxydation et l'isomérisation (**Costa et Quiros, 2006**).

I-4-Activité antioxydante

I-4-1- Pouvoir réducteur

I-4-1-1-Réduction de chlorure ferrique

Le test du pouvoir réducteur est un bon indicateur de la capacité antioxydante qui détermine le potentiel de réduction du fer ferrique du complexe ferricyanure Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{+2} (küçük *et al.*, 2005 ;Soares *et al.*, 2009) selon la réaction suivante:



Les résultats du pouvoir réducteur des échantillons analysés sont représentés sur la figure 21 :

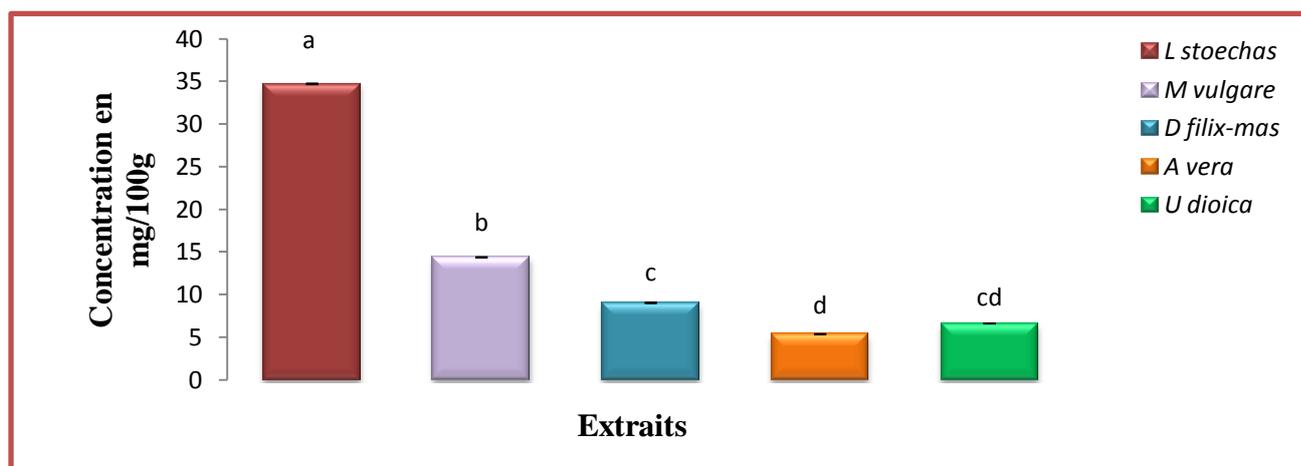


Figure 21 : Concentration du pouvoir réducteur des échantillons étudiés.

Le pouvoir réducteur le plus important est celui de l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* avec une concentration de $34,69 \pm 0,04 \text{ mg/100gES}$, d'après Ksouri *et al.*, (2008) ;Sfahlan *et al.*, (2009) : le pouvoir réducteur s'accroît avec l'augmentation du contenu phénolique des extraits, alors que le plus faible pouvoir réducteur est obtenu avec *Aloès vera* $5,33 \pm 0,005 \text{ mg/100gES}$, *Marrubium vulgare* $14,63 \pm 0,004 \text{ mg/100gES}$, *Dryoptéris filix-mas* $9,01 \pm 0,001 \text{ mg/100gES}$, *l'Urtica dioica* $6,601 \pm 0,03 \text{ mg/100gES}$ respectivement .

La différence révélée entre les résultats des cinq extraits éthanoliques, est probablement due à la quantité des antioxydants contenus dans les extraits des plantes étudiées. Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} et à la capacité réductrice d'un composé qui est un indicateur significatif de son potentiel antioxydant.

I-4-1-2-Réduction de la ferrozine

Les résultats du pouvoir réducteur par la réduction de la ferrozine des extraits de plantes sont représentés sur la figure 22 :

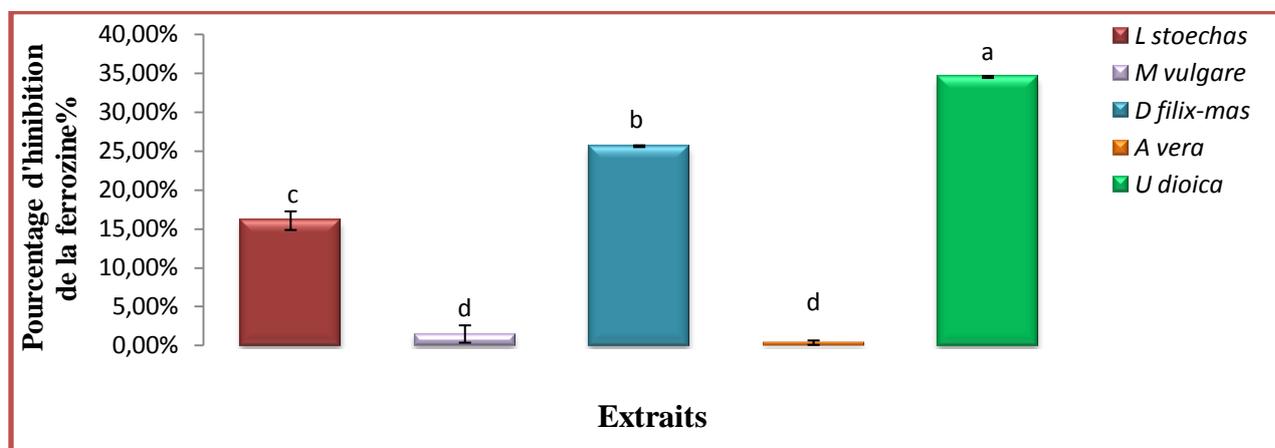


Figure 22 : Pouvoir réducteur par la réduction de la ferrozine des extraits étudiés.

Les résultats illustrés dans la figure ci-dessus montrent deux catégories de plantes ; celle qui présente un pouvoir réducteur important : *l'Urtica dioica* 34,55%, *Dryopteris filix-ma* 25,64% et *Lavandula stoechas* 16,6% ; ce résultat indique qu'il n'y a pas une corrélation entre l'activité antioxydante et la concentration en antioxydant, la seconde catégorie celle qui a un pouvoir réducteur faible par rapport aux autres plantes étudiées : *Marrubium vulgare* 1,48% et suivi par *L'Aloès vera* 0,37%.

I-4-1-3-Réduction de phosphomolybdate d'ammonium

Les résultats de réduction de phosphomolybdates sont représentés sur la figure 23 :

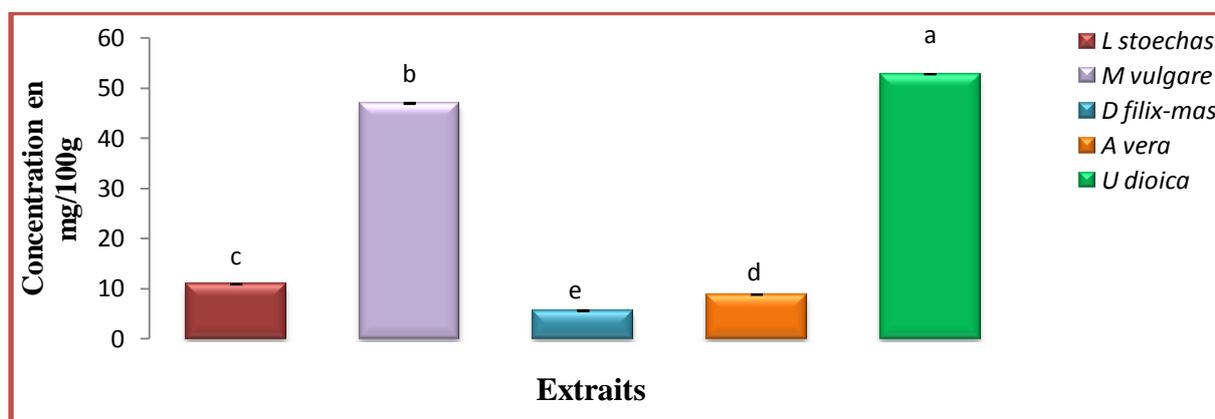


Figure 23 : L'activité antioxydante (phosphomolybdate) des extraits étudiés.

La valeur de l'activité antioxydante totale (phosphomolybdate) la plus élevée est obtenue avec l'extrait de *l'Urtica dioica* 52,78 mg/100g, suivi de *Marrubium vulgare*, *Lavandula stoechas*, *Aloès vera* et *Dryoptéris filix-mas* avec 46,95 mg/100g, 10,84mg /100g, 8,79mg/100g , et enfin 5,57mg/100g respectivement.

Ces différences sont dues essentiellement à la diversité du matériel végétal utilisé.

I-4-2-Détermination du Pouvoir antiradicalaire

I-4-2-1-Neutralisation du radical DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits de plantes vis-à-vis du radical DPPH est évaluée par spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical (**Chang et al., 2007 ; Wang et al., 2009**). Les antioxydants interagissent avec le DPPH en lui transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui entraîne son neutralisation, par conséquent la couleur change de pourpre vers le jaune (**Kubola et Siriamornpun, 2008**).

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits éthanoliques de différentes plantes sont présentés sur la figure 24 :

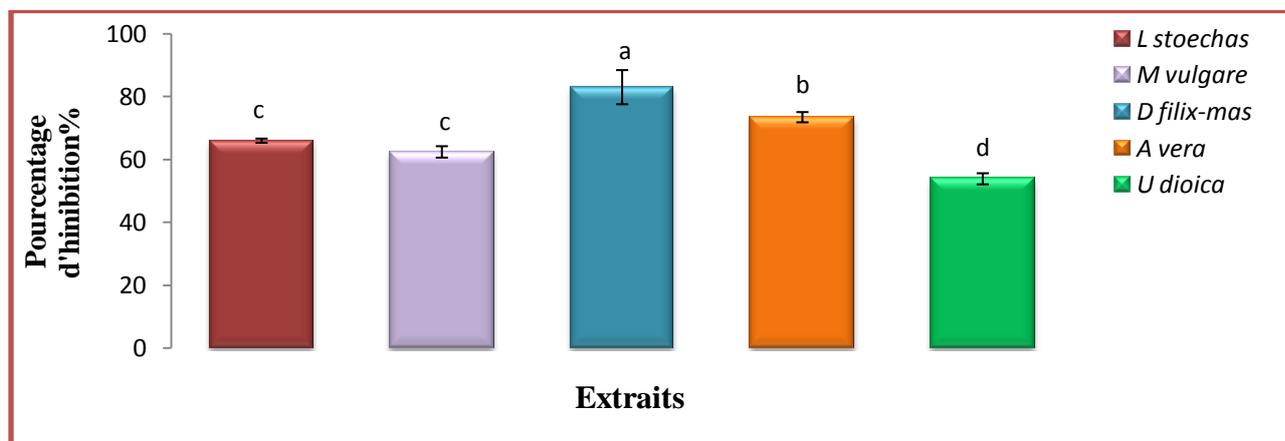


Figure 24 : Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits étudiés.

Les résultats de la (figure 24) indiquent que tous les extraits étudiés présentent la capacité de piéger plus de 50% du radical DPPH.

Le pourcentage du pouvoir antiradicalaire le plus élevé est obtenu avec *Dryoptéris filix-mas* 83,06%, conforme à celui trouvé par **Zhang et al, (2012)** dans leur étude qui est faite sur *Dryopteris erythrosora*, où ils ont estimé un taux de 79,0%.

L'extrait de *l'Aloès vera* présente une activité antiradicalaire est estimée à 73,5%, conforme à celle trouvés par **Milée et al, (2012) ; Ozsoy et al, (2009)**, qui ont constaté un taux de 80%

et 70% respectivement. Suivi par *Lavandula stoechas* 66,03%, qui est presque similaire à celle trouvée par **Gulçin et al, (2004)** 71%, nettement supérieur à celle trouvée par **Costa et al, (2012)** qui ont travaillé sur une espèce du même genre *Lavandula viridis* 24,61%, puis *Marrubium vulgare* 62,46%, conforme à celle retrouvée par **Bukalskas et al, (2012)** et par **Stulzer et al, (2006)** qui ont estimé 58,2% et 67,6% respectivement. Enfin *Urtica dioica* avec le plus bas pourcentage 53,9% supérieur à celui trouvé par **Gulçin et al, (2004)** qui ont estimé un taux de 32%.

Moussaid (2011) et **N'guessan et al, (2007)** ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire. Selon **Chen et Ho (1995)**, les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante des cinq plantes serait donc liée à leur forte teneur en phénols totaux.

I-4-2-2-Neutralisation de peroxyde d'hydrogène(H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est très important parce qu'il est capable de pénétrer à travers la membrane biologique. Il n'est pas réactif, mais il est toxique.

Il peut donner un OH, qui est un risque dans la cellule. Ainsi, son élimination dans le système cellulaire et dans la nourriture est très importante pour la protection (**Chaher, 2006**).

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits de plantes sont représentés sur la figure 25:

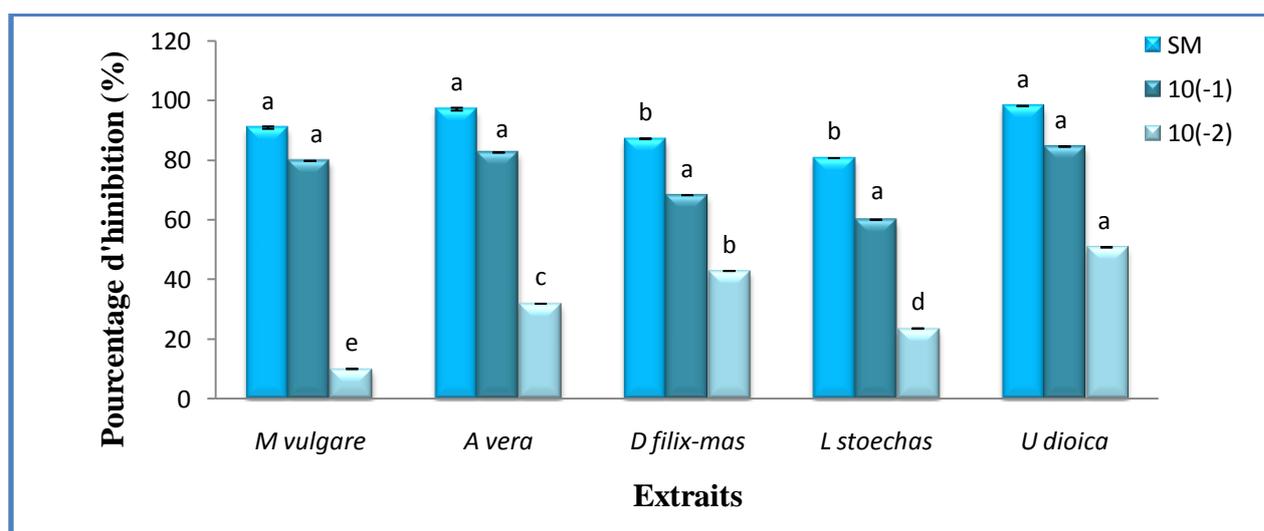


Figure 25 : Activité « scavenger » sur le peroxyde d'hydrogène des extraits étudiés.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antiradicalaire augmente significativement avec

L'augmentation de la concentration des extraits. Donc la neutralisation du radical H_2O_2 est proportionnelle à la concentration des extraits. Il ya une corrélation positive entre la quantité en polyphenols et l'activité antiradicalaire pour les cinq extraits étudiés.

Urtica dioica possède le pourcentage d'inhibition le plus élevé 98,14% et qui présente une légère différence par rapport à *l'Aloès vera* et *Marrubium vulgare* 97,08% et 90,9% respectivement , suivit de *Dryopteris filix-mas* 87,17 % , *Lavandula stoechas* 80,68% pour la même concentration.

Conclusion

Les différents résultats obtenus au cours de cette étude, nous ont permis de conclure que :

Le test d'humidité des différentes plantes a donné des teneurs importantes en eau, ce qui explique leur richesse hydrique.

Les rendements des extraits éthanoliques des cinq plantes sont généralement élevés, ce qui indique la bonne solubilité des composés des feuilles étudiées dans l'éthanol.

L'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin ciocalteu, révèle la présence des quantités importantes en polyphénols totaux, dont l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas L* a montré la teneur la plus élevée comparé aux autres extraits éthanoliques. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ qui nous mène à conclure que ; les cinq plantes contiennent principalement des teneurs considérables ; *Lavandula stoechas L* avec la plus grande valeur et la plus basse est observée avec *L'Aloe vara L*, de même pour les flavonoïdes.

Les résultats de dosage des tannins ont révélé aussi, une forte richesse pour les cinq plantes en ces composés, en particulier l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare L*.

Les extraits éthanoliques étudiés présentent des teneurs très faibles en anthocyanines.

Le dosage des caroténoïdes permet de constater que les cinq plantes présentent des teneurs faiblement considérables. Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante, les résultats de la présente étude ont montré que : le pouvoir réducteur le plus important des échantillons étudiés est celui de *Lavandula stoechas L*, alors que le plus bas est observé avec l'*Aloès vera L*, ce qui explique la présence d'une corrélation entre la quantité des polyphénols et le pouvoir réducteur.

Pour l'activité antioxydante avec le phosphomolybdate, c'est l'*Urtica dioica* qui montre la valeur la plus importante, donc il ya une corrélation négative entre la quantité des antioxydants et l'activité antioxydante.

Le potentiel antiradicalaire des antioxydants a été déterminé par la méthode de DPPH, dont les résultats montrent que ces derniers possèdent une bonne activité, et qui peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer. *Dryopteris filix-mas* et l'*Aloès vera* ont le pourcentage le plus élevé de piégeage du radical DPPH, alors que L'extrait d'*Urtica dioica* a présenté le plus bas pourcentage.

L'évaluation de l'effet scavenger du peroxyde d'hydrogène a enregistré un fort effet pour les cinq extraits.

Afin de compléter cette étude, il serait donc intéressant de :

- Etudier les différents facteurs qui influencent sur la variation de la composition en différents constituants.
- L'élargissement de l'étude sur d'autres organes des plantes étudiées afin de déterminer l'organe le plus riche en composés antioxydants.
- La mesure de l'activité antioxydante en utilisant d'autres tests.
- L'identification des composés antioxydants des cinq plantes, par des techniques plus avancées tel que L'HPLC.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydante et antibactérienne des composés polyphénoliques.
- Effectuer d'autres dosage tel que :le dosage des vitamines (La vitamine C et la vitamine E).

A

Afonso V., Champy R.; Mitrovic D; Collin P.; and Lomri A. 2007. Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue de rheumatismes*, 785-788.

Ahmed C.G,Topçu G ;Bilsela M ,Aydogmus Z;et John M. P. 2002 .The Chemical constituent and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas ssp .* *Stoechas*. *Z.Naturforsch* .57.p: 797-800.

Al-Bakri A.G.and 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.

Amit Kunwar, K.I. Priyadarsini.2011 .Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. ; 1 (2): 53-60.

Anders B. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*. 13 (2): 184-196.

Antonio J. Meléndez-Martínez, Isabel M. Vicario, Francisco J. Heredia. 2007. Pigmentos caroténoïdes: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. España; Vol. 57; N° 2.

Araceli Castaneda-Ovando Ma., De Lourdes Pacheco-Hernandez Ma., Elena Paez-Hernandez., José A., Rodriguez. et Carlos Andres Galan-Vidal. (2009). Chemical studies of anthocyanes *Food Chemistry*. 113. 859-871.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112:303-309.

Auger R, Laporte-Cru J. 1982, Flore du domaine atlantique du Sud-ouest de la France et des régions des plaines. p. 38.

B

Bachir bey M. 2006. Evaluation du pouvoir antioxydants de quelques variétés de tomates cultivées à Bejaia. Thèse de Magistère de Biochimie Biophysique Moléculaire. Université A/MIRA de Bejaia. Faculté des sciences de la nature et de la vie.

Bahar H et Balouk A. 2011.les Plantes aromatiques et médicinales, ces plantes odorantes qui soulagent la douleur .p :2-69.

- Bahurum T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Yasseur J., Cazin J.C., Pinkas M.1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*. 46(11), 1086-1089.
- Barus, C. 2008.** Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique - Application aux produits dermocosmétiques.Th.Doct : Génie des procédés et environnement, *Université de Toulouse*, p.205.
- Bauquesme B.L. 1990.**Plante médicinales des régions tempérées .p: 335.
- Bavota C. 2011 :** Se connaître Le blog qui vous change la vie .p : 17:57.
- Beaudoin G, Ouellet C.2010 :** Ortie dioïque (*Urtica dioica L*) : Guide de production sous régie biologique Filière des plantes médicinales biologiques du Québec. 2^{ème} Edition .Canada :30.
- Belkheiri ,N .2010.** Dérivés Phénoliques à activités Antiathérogènes.Th.doctorat. : Chimie-Biologie-Santé. *Université Toulouse III - Paul Sabatier*.p.193.Biotechnol. 2:3
- Berger M. M.2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 48–53.
- Bergoin-Lefort M.2005.** Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants. Thèse présentée pour obtenir le titre de Docteur de L'Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole doctorale : Sciences des Procédés, Spécialité : Sciences des Agroressources. 1-329.
- Berthod A., Billardello B., Geoffroy S. 1999.** Polyphenols in countercurrent chromatography.An example of large scale separation.Analisis .*EDP Sciences Wiley VCH*.27:750-757.
- Bertin C, Phillipson D J. 2011 :** révision scientifique coordonnée par la société canadienne de recherche sur les PSN : 148-153.
- Bézanger-Beauquesne L ., Pinka M .and Khalil A. 1986 .**Les plantes dans la thérapeutique modern.2^{ème} Edition *Maloine* : 280-281
- Bézanger-Beauquesne L., Pinka M. Torck M. and Trotin F.1990.** Plantes médicinales des régions tempérées. 2^{ème} Edition *Maloine* .p: 280-281.

Bidie .P, B. B. N'guessan, Adou F, Y, J. D .N'guessan, A.J.Djaman . 2011. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature* Vol. 8 N°1: 1 - 11.

Biesiada A; Woloszczak E; Sokół-Łętowska A; Kucharska A-S ; Nawirska-olszańska A .2009.The effect of nitrogen form and dose on yield, chemical composition and antioxidant activity of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) Vol. 55 No 3.

Blokhina O., Eija V., Faggerstedt K.V. 2003: Antioxidant, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress. *Annal of Botany*, 2003, 91, 197-194.

Bock B. 2013. Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France .*BDNFF* v4.02.

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. et Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114(4), 1198-1205.

Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H. and Marzouk B. 2007. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*. 331, 48–55.

Bonet, M. À., Agelet, A., Vallès, J. & Villar, L.2001. Contribution to the ethno-botanical knowledge of the pteridophyte in the Pyrénées. - *Bocconea*. P: 605-612

Bouterfa.K, Mehdadi.Z, Latreche.A, Zouaoui. H et Bouredja.N.2013 .Quantification of some polyphenols of *Marrubium vulgare* L. of Tessala mounts (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods, *Les technologies de laboratoires*, Volume 8, N°31.

Bouayed J;Piri K;Rammal H;Dicko A;Desor F;Younos C;Souliman R.2007.Comparative evaluation of the antioxydants potential of some Iranian medicinal plants. *Food Chemistry* 104 364-368.

Borel,J,P;Maquart,A.;Rond Pench,C.;Gillery;Bellon,R.1997.Biochimodynamique.Edition 2:144-183.

Brambilla D, Mancuso C, Scuderi1 M-R, Bosco P, Cantarella G, Lempereur L,

Benedetto G-D, Pezzino S et Bernardini R.2008.The Role of Antioxidant Supplement in Immune System, Neoplastic and Neurodegenerative Disorders: a Point of View for an Assessment of the risk/benefit Profile. *Nutrition Journal*. 7(29):1-9.

Brand-Williams W. Cuvelier M. E. and Berset C.1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaften und Technologie*. 28, 25-30.

Bremness L, 2005. Plantes aromatiques et médicinales. p: 189-249.

Bruno R. S., Song Y., Leonard S. W., Mustacich D. J., Taylor A. W., Traber M. G., and Ho E. 2007. Dietary zinc restriction in rats alters antioxidant status and increases plasma F2 Isoprostanes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 509–518.

Bushra F, Farooq A. 2008: Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants, *Food Chemistry* 108,PP 879–884.

C

Catherine J,Chu et kathi J,kemper ,MD,MPH .2001 .The longwood Herbal Task Force and the centre for Holistic Pediatric Education and Recherche Lavender (*Lavandula ssp*).p:178-182.

Chaher .N.2006. Activités antioxydant et antiradicalaire des extraits de deux plantes médicinales « Pistacia lentiscus et Fraxinus angustifolia » thèse de Magistère de Biochimie et Biophysique moléculaire. *Université A/MIRA* de Bejaia. Faculté des sciences de la nature et de la vie.p :103.

Chan E. W. C., Lin Y. Y., Wong S. K., Lin K. K., Tan S. P., Lianto F. S. and Yong M. Y.2009. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113: 166-172.

Chang H. Y., Ho Y. L., Sheu M. J., Lin Y. h., Tseng M. C., Wu S. H., Huang G. J. and Chang Y. S. 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of *phellinus merrillii* extracts. *Botanical Studies*, 48: 409-417.

Chebrouk F, Hammoudi R, Hadj M- M, Fefad T- B. 2011. Composition spécifique de la plante Marrubium desrti de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional et algérien). *Algerian journal of arid environment*. Vol. 1, n° 2: 82-87.

Chopra I.C, Abrol B.K et Handa K.I.1960. Plantes médicinales des régions arides. Considérées surtout du point de vue botanique. 7^{ème} édition paris : Unesco; 1^{er} partie.P: 11-56.

Cornelli U.2009. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*; 27: 175-194.

Cowan M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12:564-582.

Costa C, Grosso C, Goncalves S, Andrade P-B, Valentao P, Bernardo-Gil M-G, Romano A .2012.Supercritical fluid extraction and hydrodistillation for the recovery of bioactive compounds from *Lavandula viridis L'* Her. *Food Chemistry* 135, 112–121

Curtay J.P.and Robin J.M. 2000. Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info* : 1-3.

Curtay J. P. and Robin J. M. 2000. Intérêt des Complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info* : 1-4.

D

De Freitas V., Carvalho E. et Mateus N. 2003. Study of carbohydrate influence on Protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81: 503 - 509.

Delachaux et Niestlé. 1977. Plantes médicinales : Analyse, description, et utilisation de 400 plantes. 2^{ème} édition, 2006. Paris. *ISBN: 2-603-01454-4.*

Delille L ; 2007. Plantes médicinales d'Algérie. Edition BRI. p: 831.

Djerroumi A. And Nacef M. 2004 .100 plantes médicinales d'Algérie. Edition palais du livre : 91.

Dobignard A. 2013 : Base de Données Nomenclaturale Afrique du Nord : Nomenclature, taxonomie, synonymie. BDAFN v1.00.

Donnadieur. 2013 : Vertus soins et applications à l'ALOE VERA. De la faculté de Médecine de Paris. *Ed: Maloine.* p: 188.

Draghi F. 2005. L'ortie dioïque (*Urtica dioica L.*) : étude bibliographique. Thèse de docteur en Pharmacie .Université Henri Poincaré Nancy 1, faculté de pharmacie .p :60.

Druzynska B.,Stepniewska A.and Wolosiak R., 2007.The influence of time and type of solvent on efficiency of extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta. Sci.Pol*, 6 (1):27-36.

Duan X., Jiang Y., Su X., Zhang Z. et Shi J. 2007. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis Sonn*) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*. 101, 1365–1371.

Duke J .A; Bogenschutz-Godwin M. J; Du Cellier J. and Duke P .K. 2002. Medicinal herbs. 2^{ème}Edition CRC Press LLC: 769-770.

Durackova Z.2008: Oxidants, Antioxydantes and oxidative stress. *Mitochondrial Medicine*, 9:19-54.

Dutta D., Chaudhuri U. R. and Chakraborty R.2005. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology* 4 (13): 1510-1520.

Duzguner V. and Kaya S. 2007. Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free Radical Biology & Medicine*, 42:1481–1486

Escribano-Bailón M.T. and Santos-Buegla C. 2003. Polyphenol extraction from foods. In “Method in polyphenol analysis”. Ed. Royal Society of Chemistry. pp. 1-16.

Steins E. 2009. Les caroténoïdes dans les aliments. Centre de Compétence Vitamines, Danemark : 31.

Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, Hesperetin, and Naringenin: Dietary sources, bioactivity, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*, 24: 851-874.

F

Favier, A.2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique*, 108-115.

Fouler A et Canu J. 2010 : reconnaissance des fougères et plantes alliées dans les Deux-Sèvres .France .p :2-85.

Fusco D, Colloca G , Lo Monaco M-R, et Cesari M .2007. Effects of Antioxidant Supplementation on the Aging Process. *Clinical Interventions in Aging* .2(3): 377–38.

G

Gardés-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. and Jore D. 2003. Espèces réactives de l’oxygene. *L’actualité chimique* : 91-96.

Ghedira K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriété biologique, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, *Phytothérapis*. 4:162-169.

Gigon F. 2009 : Santé Verte : Le blog de la "santé autrement" .p :1-19.

Goudable, J. et Favier, A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120.

Goussard, J.P. 1999. Les radicaux libres et antioxydants. Denis Riche in Guide nutritionnel des sports d'endurances : 2-11.

Guder A et Kokmaz H, 2012. Evaluation of in -vitro Antioxidant Properties of Hydroalcoholic Solution Extracts *Urtica dioica* L.,*Malva neglecta* Wallr .And their mixture. Vol 11, N 3:913-923.

Guertin B. 2003. Factsheet for: *Marrubium vulgare* L. Arizona .p:13

Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M. et Aboul-Enien H. 2010. Radical scavenging and antioxydant activity of tannic acid. Arabian Journal of chemistry, 3:43-53.

Gulçin I, Sat I. G, Beydemir G, Elmastas M, Kufreviöglu O.I. 2004.Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L). Food Chemistry 87: 393–400.

Gulçin I, Kufreviöglu O.I, Oktay M, Büyükokurođlu M.E. 2004.Antioxydant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.) Journal of Ethanopharmacology 90: 205–215.

Gutteridge J. M. C. and Halliwell B.2010. Antioxidants: Molecules, medicines and myths. Biochemical and Biophysical Research Communications, 393: 561–564.

H

Hadi M.2004. La quercetine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Th de Doctorat en Pharmacochimie. Université Louis Pasteur Strasbourg I. France. P: 155.

Hagerman A.E. et Butler L.G.1978. Protein precipitation method for the quantitative Determination of tannins. Agricultural and Food Chernistry. 26(4): 809-812.

Hale A. L. 2003. Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, And Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp And Microsatellite Marker Analysis. Th Doctorat, Texas A&M University: 190.

Haleng.J , Pincemail.J , Defraigne.J.O , Charlier .C, Chapelle.J.P ., Halliwell, B.2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? Trends Pharmacol Sci, 32(3), 125-130.

Halimi A. 2004. Plantes médicinales en Algérie .Edition BERTI : 304.

Haliwell B. et Gutteridge J.M.C. 1989. Biology and Medecine. Oxford: Free Radicals in Claenton. 543.

Halliwell, B.1996.Mechanism involved in generation of free Radicals. *Path Biol*, 44(1):6-13.

Halliwell, B.2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends Pharmacol Sci*, 32(3), 125-130.

Hamman J .H. 2008. Composition and Applications of *Aloe Vera* Leaf Gel;p; 1599-1616; ISSN 1420-3049.

Hegerman A. E. and Bulter L. G.1978.Protein precipitation method for thr quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26(4):8.

Herrmann K.1988. On the Occurrence of Flavonol and Flavone glycoside in vegetables. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*.1986.1-5.

Hunin M, Grassart E, Isrrin P, Goetz P, Parie M, Perrey F. 2008 : plantes médicinales publie par sélection du Readr's Digest .DEUXIEME EDITION-deuxième tirage .parie .Bruxelles .Montréal. Zurich. ISBN: 978-2-7098-2021-9.

I

Iserin P.2001. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. ISSN 2170-1318.

J

Jimoh F.O., Adedapo A.A. et Afolayan A.J. 2010. Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 964–971.

Johannes S. 2005.World Spice Plants. *Lavandula stoechas* Kew Red.Grand live p: 201.

K

Kaledaite .R, Bernatoniene.J, Majiene.D, Dvorackova.K, L. Masreikova R, Muselik J, Kalveniene Z, Liobikas J and Savickas A. 2011. Invistigation of antiradical activity of *salvia officinalis L.*, *Urtica dioica L.*, and *Thymus vulgaris L.*extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol.5 (25), pp.6090-6096.

Khanbabaee, K et Van Ree T. 2001. Tannins: Classificaties and Defnition. *Nat. Prod. Rep.* 18: 641–649.

Kubola J. et Siriamornpun S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro. Food Chemistry. 110(4): 881-890.

Kosir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Golc Wondra A., Vrhovšek U. et Kidri J. 2004. Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. Analytica Chimica Acta. **513**, 277-282.

Kowalczyk E., Krzesiński P., Kura M., Szmigiel B. et Blaszczyk J. 2003.

Anthocyanins in medicine. Pol. J. Pharmacol. 55. p: 699–702.

Küçük M; Kolaylı S; Şengül K; Ulusoy E; Baltac C; Candan F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100: 526–534.

L

Lamnauer D. et Batanouny K. 2002. A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN. p 171-173.

Léger J-F .2012 : Lavandula_stoechas L. eFlore, la flore électronique de Tela Botanica Base de données des Trachéophytes de France métropolitaine BDTFX v.1.01

Lapornik B., Prošek M. et Wondra A.G. 2005. Comparison of extracts prepared from Plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering. 71: 214-222.

Li X-J, Wang W, Luo M, Li C-Y, Zu Y- G, Mu P-S, Fu Y-J .2012. Solvent-free microwave extraction of essential oil from *Dryopteris fragrans* and evaluation of antioxidant activity. Food Chemistry, Vol 133, PP437-444.

Lim Y. Y., Lim T. T. and Tee J. J. 2006. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food Chemistry. 103, 1003–1008.

M

Maisuthisakul P., Suttajit M. and Pongsawatmanit R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry, 100: 1409-1418.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C et Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American society for clinical nutrition.79: 727-747.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C et Jiménez L. 2006. Polyphenols: Food sources and bioavailability. Am. J. Clin. Nut. 79: 727-747.

Masteikova .R, Muselik.J, Kalveniene.Z, Liobikas. J, and Savickas.A .2011.Investigation of antiradical activity of *Salvia officinalis L.*, *Urtica dioica L.*, and *Thymus vulgaris L.* extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation, Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 5(25), pp. 6090-6096.

Matkawski A et Piotrowska M.; 2006.Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae.Vol 77, pp.346-353

Mates. 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. Toxicologie, 153: 83-104.

Mau J. L.,Tsai S. Y.,Tseng Y. H.and Huang S. J., 2005. Antioxidant properties of Methnolic extracts from *Ganoderma tsugae*.Food chemistry., 93:641-649.

Mazza .G. 2007. Anthocyanins and Cardiovascular Health. Summerland, British Columbia, Canada.p: 1-6.

Meléndez-Martinez A. J., Vicario I. M. and Heredia F. J.2007. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. Food Chemistry, 101: 177–184.

Menvielle-Bourg J. F.2005. Le superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale .Phytothérapie. 3, 118-121.

Meot-Duros L., Floch G.L. et Magné C. 2008. Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. Journal of Ethnopharmacology. 116:258-262.

Mette.M.B. 2006.Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances Nutritional manipulation of oxidative stress:review of the evidence. 48–53.

Meyer-Silva C; Yunes R. A; Schlemper V; Campos-Buzzi F .and Cechinel-Filho V. 2005. Analgesic potential of marrubiine derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). II Farmaco, 60:321-326.

MiLée E, Bai H-W, SikLee S, Hyun Hong S, Cho J-Y, Chung B. 2012 .Gamma irradiation improves the antioxidant activity of *Aloe vera (Aloe barbadensis miller) extracts*. Radiation Physics and Chemistry 81: 1029–1032.

Mohammedi, Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. Option : Produits naturels, activités biologiques et synthèse. 1-23.

Moniruzzaman, M; , Begum R; Sohel A; Amrita, Md. Ibrahim Khalil; and Siew Hua Gan. 2012: In Vitro Antioxidant Effects of Aloe barbadensis Miller Extracts and the Potential Role of These Extracts as Antidiabetic and Antilipidemic Agents on Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Model Rats. 17, p: 12851-12867.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 26: 211-219.

Moussaid M, Elamrani A-A, Berahal C, Moussaid H, Bourhime N and Benaïssa M . 2011. Evaluation of the Antioxidant Potential of Some Morocco Medicinal Plants. Global Journal of Pharmacology 5 (3): 153-158.

N

Naczka, M; Grant, S.; Zadernowski, R. and Barre, E. 2006. Protein precipitating capacity of phenolics of Wild blueberry leaves and fruits. Food chemistry, 96:640-647.

Nathalie . 2011: Compléments alimentaires : les plantes, vitamines et minéraux la base des compléments alimentaires. p: 12.

Niizu P. Y. and Rodriguez-Amaya D. B. 2005. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. Journal of Food Composition and Analysis, 18: 739–749.

O

Ordóñez A. A. L., Gómez J. D., Vattuone M. A. and Ilsa M. I. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq) Swartz extracts. Food Chemistry. 97, 452-458.

Oszmianski J., Wojdyło A., Lamer-Zarawska E. et Świader K. 2007. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. Food Chemistry. 100:579-583

Owen P. L. and Johns T. 1999. Xanthin oxydase inhibitory northeastern North American plant remedies used for gout. Journal of Ethnopharmacology, 64: 149-160

Ozsoy N; Candoken E and Akev N. 2009. Implications for degenerative disorders Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and β -tocopherol in *Aloe vera*; journal list Oxide Med Cell Longev. Vol 2(2): 99–106.

P

Paule N. 2009. Le point sur la vitamine C. Paris ; vol 2 ; N°4.

Pavela R. 2004.Insecticidal activity of certain medicinal plants.Fitoterapia. 75:745-749.

Pelli, K. et Lyly. 2003. Les antioxydants dans l'alimentation .VTT Biotechnology Finlande. Consommateurs, 03 : 5-28.

Percival M. 1998. Antioxydants. Cilincal Nutrition Inshgits., 31 : 1-4.

Pincemail, J; Meurisse, M; Limet, R. et Defraigne, J.O. 1998. Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. Medi Sphere, 73: 1-4.

Pratt D. E. and Hudson B. J. F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially In Food Antioxidants. Elsevier applied science: 171-190.

Pukalskas A. 2008. Isolation, identification and activity of natural antioxidants from sweet grass (*Hierochloe odorata*), costmary (*chrysanthemum balsamita*) and horehound (*Marrubium vulgare*), cultivated in Lithuania .Th Doctorat; Université de wageningen p: 137.

Pukalskas A, Venskutonis P.R, Salido S, Waard P, Teris A. Beek V. 2012. Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare L.*) Cultivated in Lithuani. Food Chemistry 130: 695–701.

Q

Quiros A. R. B. and Costa H. S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 97–111.

R

Ratnam D.V.; Ankola D.D.; Bhardwaj V.; Sahana D.K.; and Kumar M.N.V.R. 2006. Role of antioxidants in prophylaxie and therapy: A pharmaceutical perspective .Journal of controlled Release.113:189-207.

Ré, D. B., Nafia, I., Nieoullon, A., Le Goff, L. K. et Had-Aissouni, L. 2005. Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24(5), 502-509.

Ribereau-Gayon, P. 1968. Notions générales sur les composes phénoliques des Végétaux. Edition Dunod, Paris: 105-133.

Ribéreau-Gayon J., Prynauud E., Sudraud P. et Ribéreau-Gayon P. 1982. Composés Phénoliques. In « Traité d'oenologie, science et technique du vin ». Edition *Dunod* : 477-499.

Rice-Evans C.A., Miller N.J. et Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science reviews*. 2, 4, 152-159.

Rodriguez-Amaya D. B. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. International Life Sciences Institute Press, 1-71.

Rolland Y. 2004. Antioxidants naturels végétaux. *OCL*, 11(6): 419-424.

S

Schauenberg P. 2005. Plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes : Edition Beta : 282-283.

Sellapane S. et Akoh C. C. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity. 50, 2432-2438.

Sies W., Stahl W. et Sundquist A.R. 1992. Antioxidant functions of vitamins; vitamin E and C, b-carotene and other carotenoids, In: Savberlich H.E. and Machlin L.Y. (Eds.), *Beyond Deficiency, New Views on the Function and Health Effects of Vitamins*. Annals of the New York Academy of Sciences. 7–20.

Silva E.M.;Rogez H.;et Larendelle Y. 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology .Separation and purificationTechnology.55.pp:381-387.

Skerget, M., Petra, K., Hadolin, M., Andreja, R.H., Simonoc, M., knez, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*; 89:191-198.

Smain A, DadeM, Schinella G and RíosJ-L. 2012. Anti-inflammatory, anti-oxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin; Vol.25, No.1, pp.65-72.

Soares A.A., Marques de Souza C.G., Daniel F.M., Ferrari G.P., Gomes da Costa S.M. et Peralta R.M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry*. 112: 775-781.

Sohal, R. S. Mockett, R. J. Orr W. C. 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis; *Free Rad. Biol. Med.*, 33. 575-586

Stiger-Pouvreau, V. 2006 .Connaissances chimiotaxonomiques du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différentes espèces de sargassa cées des îles Salomon.Laboratoire d'écophysiologie et de biotechnologie des halophytes et des algues marines.

Stulzer H.K, Tagliari M.P, Zampirolo J.A, Cechinel-Filho V, Schlemper V. 2006. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare* .Journal of Ethnopharmacology 108:379–384.

Stéphanie M-S. 2005 .Biosynthèse de caroténoïdes aromatiques hydroxylés par des bactéries non photosynthétique : des caroténoïdes xanthophylles .Universités de Bretagne occidentale ; thèse de docteur, option microbiologie .1-173.

T

Tacchini P., Schriener N. 2005.Le stress oxydatif et les antioxydants.Flair Flow Europe.N°ISBN : 2-7380-1069-5.

Temani Y. 2006.les plantes: Le marrube. Edition Santé: 1-2. avril 2005.

Touati N. 2009 .Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des substances végétales actives (polyphénols et huiles essentielles) et de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Rosmarinus officinalis*. Thèse de Magistère de Contrôle de Qualité Certification et Méthodes de validation. Université A/MIRA de Bejaia. Faculté des sciences de la nature et de la vie.p: 74.

Tung Y.T, Wu J.H., Kwo Y.H et Chang S.T. 2007.Antioxidant Activity of Naturel Phenolic compounds From *Acacia Confusa* Bark. Bioresource Technology 98: 1120-1123.

V

Valko M., Rhodes C. J., Moncola J., Izakovic M. and Mazura M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.

Valenet J. 1992 .Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes. Edition Maloine: 438-439.

Vanstippen M-J . 2005. La grande ortie (*urtica dioica*). Belgique, p : 2.

Vattem, D.A., Ghaedian, R., Shetty, K. 2005. Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. *Asia Pac J Clin Nutr*, 14 (2), 120-130.

Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L. et Oomah B.D. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 4113-4117.

W

Wang B. S., Chen Y. J., Liu S. H. and Lin-Shiau S. Y. 2000. An increase in free radical production by means of an anion channel blocker DIDS in mouse peritoneal neutrophils. *Proceedings of the National Science Council Republic of China*, 24(4): 178-186.

Wang, L., Mazza, G. 2002. Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -Activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50: 850-857.

Wettasinghe M. et Shahidi F. 2000. Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH freeradicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food chemistry*. 70:17-26.

Y

Yamaguchi Liggett J.L, Kim N, C. and Beak S.J. 2006. Anti –proliferative effect of horehound leaf and wild cherry bark extracts on human colorectal cancer cells .*Oncol Rep*, 15(1): 275-281.

Yousfi H., Tahri H., EL Amrani A et SerghiniCaid H. 2003. Etude de l'effet antioxydant des anthocyanines de l'olive, raisin rouge, de chou rouge et de la fraise. *Biochimie, Substances Naturelles et Environnement*. 452-455.

Z

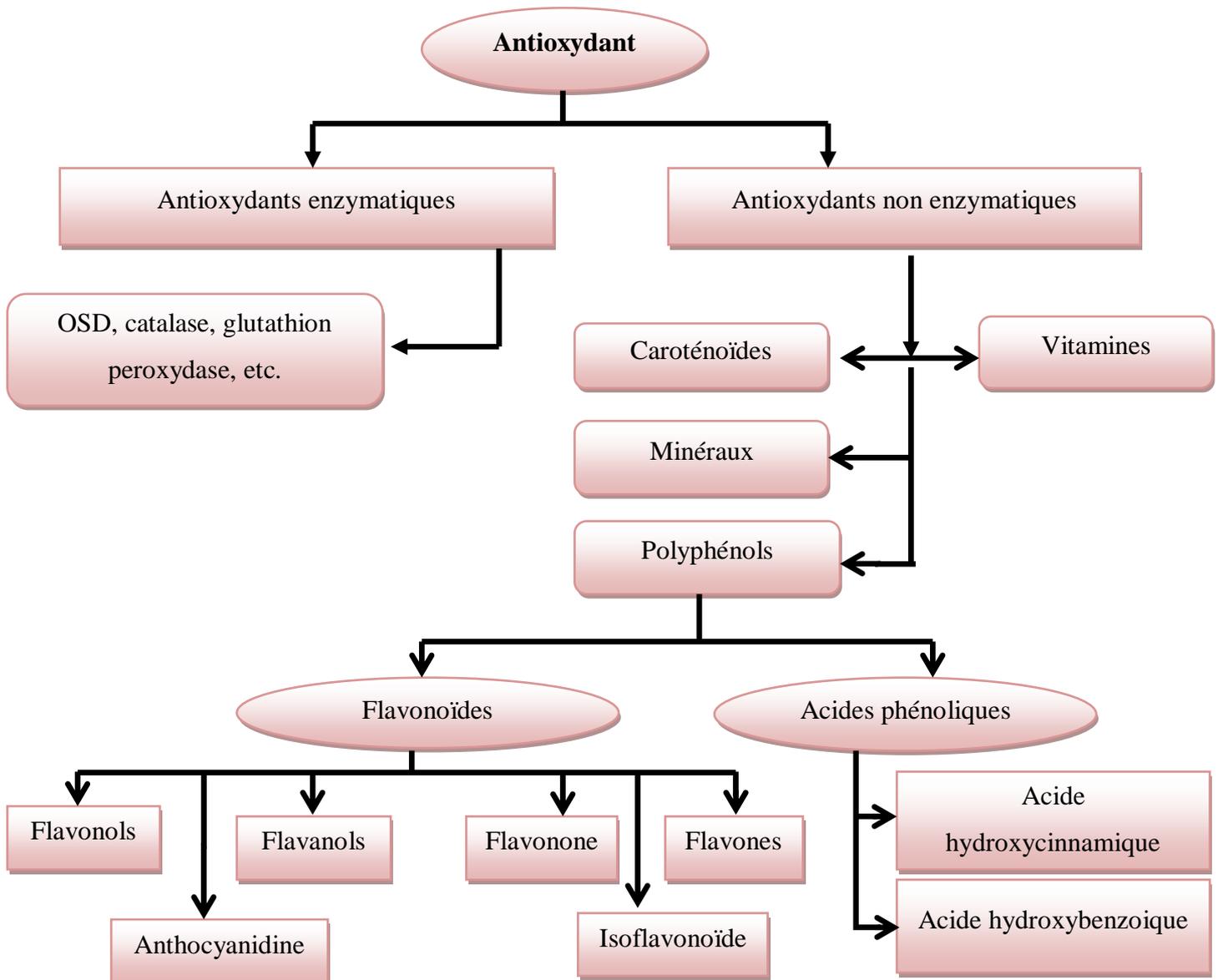
Zamora G. S., Yahia E. M., Brecht J. K. et Gardea A. 2005. Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Food Science and Technology*. 38, 657-663.

Zanatta C. F. and Mercadante A. Z. 2007. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu–camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry* 101: 15.

Zhang M; Cao J; Dai X; Chen X and Wang Q. 2006. Flavonoid Contents and Free Radical Scavenging Activity of Extracts from Leaves, Stems, Rachis and Roots of *Dryopteris erythrosora*. *Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11 (3): 991-997.

Zeghad. N. 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . Thèse de Magistère de Biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine. Faculté des sciences de la nature et de la vie.

Annexe I : Classification des antioxydants (Ratnam *et al.* ; 2006).



Annexes II: matériel et réactifs utilisée

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> -Agitateur magnétique (RAYPA AG5) -Bain marie (MEMMERT) -Balance (SARTORIUS) -Balance de précisions (BP 310P) -Broyeur électrique (A 11 BASIC) -Centrifugation (SIGMA – 16K) -Etuve (BINDER, BD 53) -Mixeur. -Papier filtre. -pH mètre (HANNA, pH210). -Réfrigérateur (ENIEM). -Spectrophotomètre (SpectroScan 50). -Tamiseur électrique . -Entonnoirs ; -Eprouvettes 10, 50, 100 ML. - Bêchers de 25,100, 250,500, 1000 mL -Micropipettes de 50,100 et 1000 µL. -Pipettes en verre de 1, 2, 5,10 mL. -Plaque agitatrice (VELP Scientifica). -Tubes à essai en verre. -Vortex (Tehtnica). 	<ul style="list-style-type: none"> -Acétate de sodium (CH₃COONa) -Acétone (CH₃COCH₃) -Acide sulfurique (H₂SO₄) - AlCl₃ (PROLABO) -BHA (C₁₁ H₁₆ O₂) -Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 20% -Chlorure de potassium (Kcl) -Bovine Sérum Albumine (BSA) -DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) -Ethanol (80%) (CH₃ CH₂OH) -Folin-Ciocalteu (1N) -Acide chlorhydrique (HCl) -Hexane (C₆H₁₄) -Hydroxyde de potassium KOH (10%) - Ferrozine (Sigma -Méthanol (CH₃OH) -H₂O₂(PROLABO) - SDS(PROLABO) - TEA (PROLABO) -Molybdate d'ammonium ((NH₄)₆ Mo₇ O₂₄.4H₂ O) -Phosphate de sodium (Na₃PO₄. 12H₂O) -Trichlorure d'aluminium à 2% (AlCl₃) - Standards : acide gallique, acide tannique, quercetine, et B-carotène.

Annexe III: Préparation des solutions

1- Dosage des composés phénoliques

1.1. Polyphénols totaux

Solutions	Préparation des solutions
Solution de Carbonates de Sodium (60g/l)	2,4 g de Na ₂ CO ₃ sont dissoutes dans 70 ml d'eau distillée
Ethanol 80%	Ethanol 80 pur ajusté à 100 avec l'eau distillée.

1.2. Flavonoïdes

Solutions	Préparation des solutions
Solution d'AlCl ₃ (2%)	2 g d'AlCl ₃ sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée.

1.3. Flavonols

Solution	Préparation de la solution
Solution d'AlCl ₃ (2%)	2 g de poudre d'AlCl ₃ sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée.
Solution d'acétate de sodium (50g /l)	3,5g d'acétate de sodium dans 70ml d'eau distillée

1.4. Tannins

Solutions	Préparation des solutions
Tampon SDS/TEA	1% SDS (w/v) 5% de triéthanolamine (v/v) On met 2,5 ml de TEA dans 50 ml d'eau distillée et on lui a ajouté 0,5 g de SDS
Chlorure Ferrique	FeCl ₃ (0,01 M), HCl (0,01 N) 0,045 g de FeCl ₃ (0,01M) sont mélangé avec 212 ,5 ul d'HCl (0,01N) dans

	250 ml d'eau distillée.
Tampon acétate (pH= 4 ,5)	1,15 ml d'acide acétique +0,994g de NaCl ajusté de l'eau distillée à 100 ml. pH ajusté à 4,9 avec du NaOH
Solution de BSA	1 mg/ml de BSA dissoute dans 10ml tampon acétate. Stockée à 4°C.

1.5.Caroténoïdes

solution	Préparation des solutions
Solution de KOH (1m)	5,6g de KOH (1M) dans 100 ml de l'eau distillée
Solution de sulfate de sodium (1%)	1g de sulfate de sodium dans 100 ml de l'eau distillée.

1.6.Anthocyanines

solution	Préparation des solutions
Solution de H ₂ O acidifié	0,1ml de HCl dans 9,9ml de l'eau distillée
Tampon de chlorure (PH=1)	KCl (0.25M), HCl (0.1N). 1,86g de KCl (0.25M) dans 100ml d'eau distillée ajusté avec HCl (0.1N) au PH=1d' où HCl est préparé comme suit: 0,84ml d'HCl dans 50ml d'eau distillée.
Tampon d'acide acétique (PH=4,5 ; 0,4M)	Acide acétique, (0,4M), NaOH (0,4M) 2,28ml d'acide acétique dans 100ml d'eau distillée ajusté avec NaOH (0,4M) au Ph= 4,5 d' où NaOH est préparé comme suite : 1,6g dans 100ml d'eau distillée

Annexe IV. Activité antioxydante**1. Détermination du Pouvoir réducteur****1.1. Neutralisation de radical H₂O₂**

Solution	Préparation des solutions
solution H ₂ O ₂ (30%)	30ml de solution de H ₂ O ₂ dans 10 ml de l'eau distillée.

1.2. Réduction de chlorure ferrique

solution	Préparation des solutions
Tampon de phosphate (0,2M, pH=6 ,6)	3.483g de K ₂ HPO ₄ dans 100ml d'eau distillée. 2.721g de KH ₂ PO ₄ dans 100ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions jusqu'à l'obtention d'une solution à un pH 6,6.
Solution de ferracyannure de potacium (1%)	0,5g de ferracyannure de potacium dans 50 ml de l'eau distillée
Solution de l'acide trichloracétique (10%).	5g de l'acide trichloracétique dans 50 ml de l'eau distillée.
Solution de chlorure ferrique (0,1%)	0,05mg de chlorure ferrique dans 50ml de l'eau distillée.

1.3. Réduction de la ferrozine

solution	Préparation des solutions
Solution de la ferrozine (5mM)	156mg de la poudre de ferrozine sont dissous dans 60 ml de l'eau distillée

Solution de FeCl ₂ (2mM)	25,3 mg de FeCl ₂ dissous dans 100ml de l'eau distillée.
-------------------------------------	---

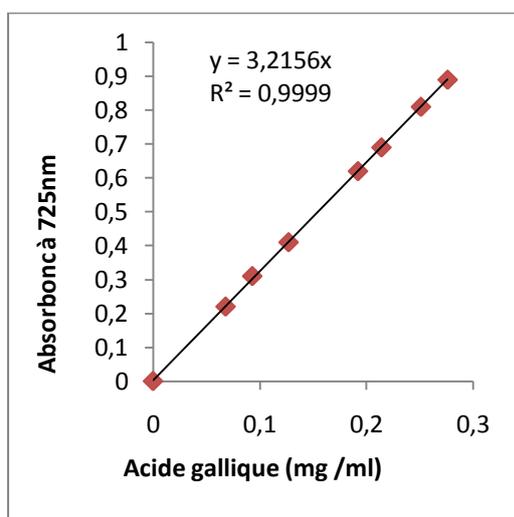
1.4. Méthode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)

solution	Préparation des solutions
DPPH (6 .10 ⁻⁵ M)	1,182 mg de DPPH sont dissous dans 50ml de méthanol.

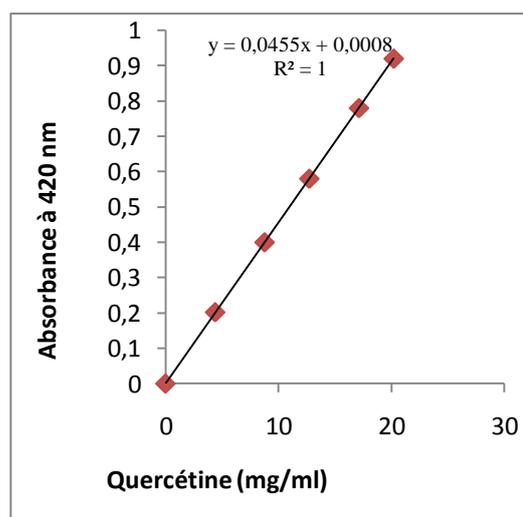
1.5. Réduction de phosphomolybdates d'ammonium

Solution	Préparation des solutions
Molybdate d'ammonium (NH ₄) ₂ MoO ₄ (4mM) Phosphate de sodium NaH ₂ Po ₄ (28 mM) Acide sulfurique(600 mM) (12,85 ml)	1,9774 g de molybdate+ 1,5904 g de Na ₂ PO ₄ + 12,85ml de H ₂ SO ₄ sont dissous dans 387,15 ml de l'eau distillée.

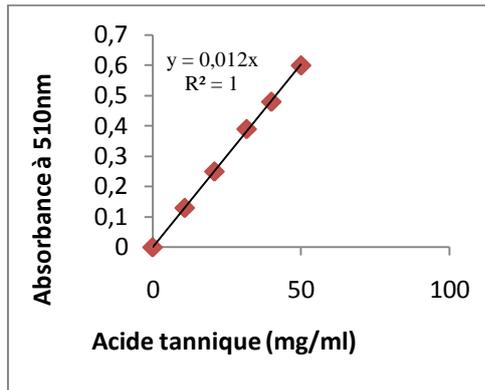
Annexe V: Courbes d'étalonnage utilisées pour le dosage des composés phénoliques.



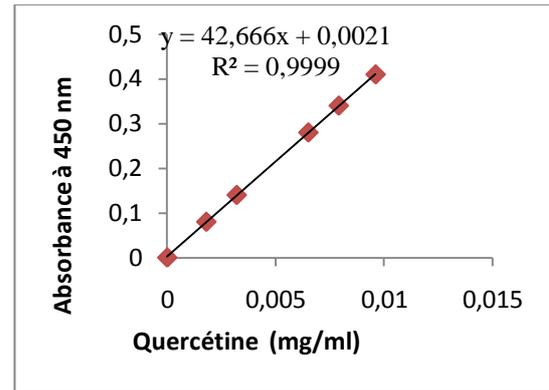
1- Polyphénols totaux.



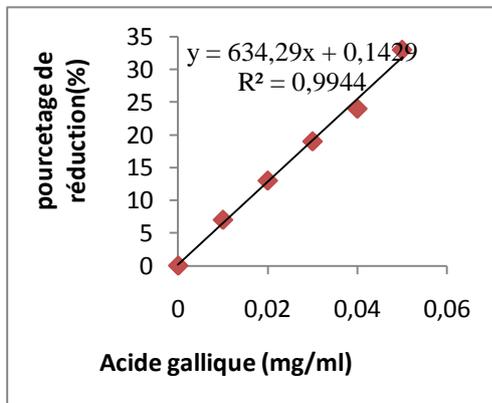
2- Flavonoïdes.



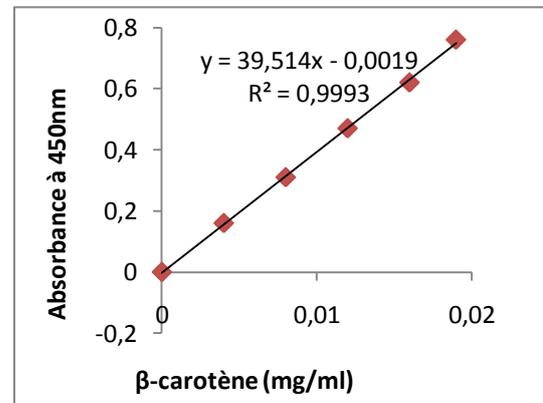
3- Flavonols.



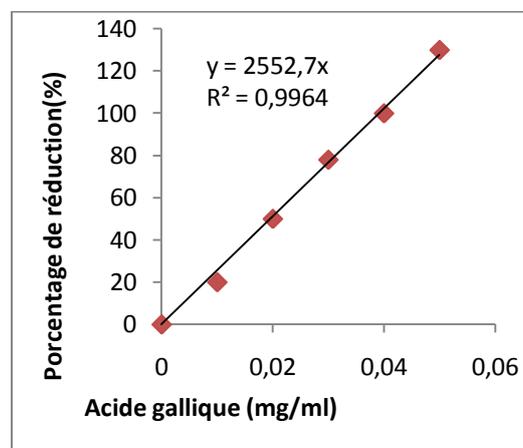
4- Tannins



5- Phosphomolybdate.



6- Caroténoïdes.



7- Réduction de chlorure ferrique.

Résumé

Lavandula stoechas L, *Marrubium vulgare L*, *Dryopteris filix-mas L*, *Aloe vera L* et *Urtica dioica L*, plantes utilisées depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, reconnues par leurs vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude comparative de la teneur en quelques antioxydants (polyphénols totaux, flavonols, caroténoïdes...), et l'activité antioxydante des différents extraits obtenus.

Dans cette recherche le solvant utilisé pour l'extraction est l'éthanol, qui a donné le meilleur rendement avec (*L. stoechas L*). Le test d'humidité a démontré la richesse hydrique des cinq plantes étudiées. L'analyse phytochimique a montré que la teneur la plus élevée en polyphénol totaux, flavonoides et flavonols a été obtenue par (*L. stoechas L*), alors que la teneur la plus faible avec (*A. vera L*).

Cependant les tannins ont été détectés chez (*M. vulgare L*) avec la teneur la plus importante et chez (*D. filix-mas L*) avec la moindre teneur.

Des teneurs très faibles en anthocyanines, alors que les caroténoïdes ont des teneurs un peu plus élevées. Le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium a donné le meilleur résultat avec (*L. stoechas L*), tandis que le pouvoir réducteur avec la ferrozine et au phosphomolybdate s'est révélé meilleur dans l'extrait éthanolique (*U. dioica L*).

Pour l'activité scavenger au radical libre DPPH le meilleur résultat est enregistré avec (*D. filix-mas L*), alors que le pouvoir antioxydant estimé par l'effet scavenger du peroxyde d'hydrogène a enregistré la valeur la plus élevée dans l'extrait éthanolique de (*U. dioica L*).

Mots clés : plantes médicinales, *Marrubium vulgare L*, *Lavandula stoechas L*, *urtica dioica L*, *Aloe vera L*, *dryopteris filix-mas L*, Activité antioxydante, espèces réactives de l'oxygène, polyphénols,

Abstract

Lavandula stoechas L, *Marrubium vulgare L*, *Dryopteris filix-mas L*, *Aloe vera L*, and *Urtica dioica L*, plant used since the antiquity in traditional medicine, recognized by their therapeutic properties. In this context, this paper focuses on a comparative study of some antioxidants content (total polyphenols, carotenoid, flavonol...), and antioxidant activity of different extracts obtained.

In this research the solvent used for extraction is ethanol, which gave the best performance with (*L. stoechas L*). The test of moisture showed the hydrous richness of the five plants studied.

Phytochemical analysis showed that the highest content of total polyphenol, flavonoids and flavonols was obtained by (*L. stoechas L*), while the lowest content with (*A. vera L*).

However, the tannins were detected in (*M. vulgare L*), with de content most important and at (*D. filix-mas L*) with the last content.

Very low contents of anthocyanines, whereas the carotenoids have contents a little more raised. Reducing power of the potassium ferricyanid, gave the best result with (*L. Stoechas L*), while reducing power with ferrozine and phosphomolybdate proved best in the ethanolic extract (*U. dioica L*).

For activity to DPPH free radical scavenger the best result is recorded with (*D. filix mas L*), While the estimated effect of the scavenger antioxidant hydrogen peroxide showed the highest value in the ethanol extract (*U. dioica L*).

Keywords: medicinal plants, *Marrubium vulgare L*, *Lavandula stoechas L*, *Urtica dioica L*, *Aloe vera L*, *Dryopteris filix-mas L*, antioxidant activity, reactive oxygen species, polyphenols,