

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES



FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Écologie et environnement

Spécialité : Biodiversité et Écologie Végétale

Intitulé du thème :

Caractérisation des métabolites secondaires des feuilles de *Silybum marianum* L.

Présenté par : Melle Zenak Samira

Melle Mebarki Nadjat

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury	: Mr Z. Hazem	(MCB	UDL Sidi Bel Abbés)
Examineur	: Mr R. Djellouli	(MAA	UDL Sidi Bel Abbés)
Promoteur	: Mme F.Z Bessam	(MCA	UDL Sidi Bel Abbés)

Année universitaire 2020 - 2021

Session : « »

والله اعلم
بما كنا
نعمين





Remerciement

*Avant tout, nous remercions **Allah** ﷻ le tout miséricordieux l'unique, le puissant, maitre des cieux et de la terre pour nous avoir guidé, protégé, aidé et permis de mener à bien ce travail.*

C'est avec un grand plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail :

*Je tiens à remercier vivement **mes parents** pour le soutien qu'ils m'ont apporté durant toute cette expérience.*

*Nous remercions chaleureusement notre encadrant **Dr Bessam Fatima Zohra** pour son aide et ses précieux conseils qu'il nous a prodigué durant la réalisation de ce mémoire.*

J'aimerais exprimer mes remerciements à tous les techniciens du laboratoire phytochimie de l'Université Djilali Liabes qui m'ont beaucoup appris au cours de cette pratique.

Enfin, je tiens à remercier tous mes enseignants et mes collègues et mes proches et tous ceux qui m'ont aidé pour réaliser ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère

*Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le
symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et
de prier pour moi.*

A mon très cher père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le
dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi, rien au
monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être.*

A mes cher frères et mon fiancé

*Mes anges gardiens .Je te dédie ce travail avec tous mes vœux
de bonheur, de santé et de réussite.*

A ma cher Sœurs

*Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et
d'amour.*

A mes chères amies

*Nadjat, Cherifa, Fatima, Oussama merci pour les bons
moments qu'on a passé ensemble.*

Samira. Z



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère

*Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le
symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et
de prier pour moi.*

A mon très cher père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le
dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi, rien au
monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être.*

A mes cher frères et mon fiancé

*Mes anges gardiens .Je te dédie ce travail avec tous mes vœux
de bonheur, de santé et de réussite.*

A ma cher Sœurs

*Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et
d'amour.*

A mes chères amies

*Cherifa, Nour El Houda, Samira merci pour les bons moments
qu'on a passé ensemble.*

Nadjat. M

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à évaluer qualitativement les flavonoïdes contenus dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Silybum marianum* L. en utilisant une technique analytique de séparation et d'identification des divers constituants de cet extrait par la chromatographie sur couche mince (CCM).

Dans notre travail, nous avons utilisé quatre systèmes de solvants : chloroforme / acétone / acide formique (75 / 16.5 / 8.5 ml : V / V / V) ; chloroforme / méthanol / eau (90 / 10 / 20 ml : V / V / V) ; acétate d'éthyle / méthanol / eau (50 / 20 / 10 ml : V / V / V) ; butanol / acide acétique / eau (40 / 50 / 10 ml : V / V / V).

La chromatographie sur couche mince a révélé l'existence dans les solvants organiques, certaines classes flavonoïques. Les chalcones, les dihydroflavonols, les anthocyanes, les anthocyanidines 3 glucoside, les anthocyanidines 3.5 diglucosides, les flavones, les flavonols 5, 6, 7 tri OH libre, les flavonols 5, 7, 8 tri OH libre, les flavonols 3 OH libre, les flavanones, les isoflavones, les flavonolignanes et les acides phénols).

L'extrait méthanolique des feuilles de *Silybum marianum* L. s'avère riche en composés phénoliques.

Mots clés: *Silybum marianum* L., feuilles ; flavonoïdes ; CCM.

ملخص

كان الهدف من هذا العمل هو التقييم النوعي لمركبات الفلافونويد الموجودة في المستخلص الكيميائي لأوراق *Silybum marianum* L. باستخدام تقنية تحليلية لفصل وتحديد مستخلص عيار المصفوفة (CCM).

في عملنا ، استخدمنا أربعة أنظمة مذيبات: الكلوروفورم / الأسيتون / حمض الفورميك (8.5 / 16.5 / 75 مل: V / V / V) ؛ الكلوروفورم / الميثانول / الماء (90/10/20 مل: V / V / V) ؛ أسيتات الإيثيل / الميثانول / الماء (50/20/10 مل: V / V / V) ؛ بيوتانول / حمض أسيتيك / ماء (40/50/10 مل: V / V / V).

كشف كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عن وجود فئات معينة من الفلافونويد في المذيبات العضوية. Chalcones ، anthocyanidins 3.5 ، anthocyanidins 3 glucoside ، anthocyanins ، dihydroflavonols ، flavonols 5 ، flavones ، diglucosides ، tri OH free 7 ، 6 ، flavonols 5 ، flavones ، diglucosides ، OH أنواع 8 ، fibre ، 7 ، flavonols 5 ، tri OH free 7 ، 6 ، flavonols 5 ، flavones ، diglucosides ، (flavonolignans ، isoflavones ، flavanones).

تم العثور على المستخلص الميثانولي لأوراق *Silybum marianum* L. غني بالمركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية: *Silybum marianum* L. ، أوراق ؛ الفلافونويد. CCM.

Abstract

The objective of this work was to qualitatively evaluate the flavonoids contained in the chemical extract of the leaves of *Silybum marianum* L. using an analytical technique of separation and identification of extracts from the matrix CC).

In our work, we used four solvent systems: chloroform / acetone / formic acid (75 / 16.5 / 8.5 ml: V / V / V); chloroform / methanol / water (90/10/20 ml: V / V / V); ethyl acetate / methanol / water (50/20/10 ml: V / V / V); butanol / acetic acid / water (40/50/10 ml: V / V / V).

Thin layer chromatography has revealed the existence in organic solvents, certain classes of flavonoids. Chalcones, dihydroflavonols, anthocyanins, anthocyanidins 3 glucoside, anthocyanidins 3.5 diglucosides, flavones, flavonols 5, 6, 7 tri OH free, flavonols 5, 8 triflas flavans, OH, flavonolignans) and phenols) .

The methanolic extract of the leaves of *Silybum marianum* L. is found to be rich in phenolic compounds.

Key words: *Silybum marianum* L., leaves; flavonoids; CCM.

Dédicaces	
Remerciement	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Sylibummarianum* L. Données générales

1-Historique.....	5
2-Systématique.....	5
3- Nomenclatures.....	6
4-Habitat et origine.....	6
5-Caractéristiques morphologique et botanique.....	7
6-Constituants chimiques des graines.....	9
7- Propriétés de la plante.....	10
8-Utilisation pharmaceutique.....	11
9-Utilisation cosmétique.....	12

Chapitre II : Composés phénoliques

1-Introduction.....	15
2-Structure chimique des flavonoïdes.....	16
3-Classification des flavonoïdes.....	17
3-1- Flavane.....	17
3-2- Flavanone.....	18
3-3- Flavone.....	18
3-4- Flavonol.....	19
3-5- Flavanonol.....	19
3-6- Isoflavone.....	20

3-7- Les flavane-3-ols.....	20
3-8- Les chalcones.....	21
3-9- Aurones.....	21
3-10- Les anthocyanines ouanthocyanosides.....	22
3-11- Les flavonolignanes.....	22
4- propriétés des flavonoïdes.....	22
4-1- propriétés antioxydante.....	22
4-2- Propriétés pro-oxydante des flavonoïdes	23
4-3-Mécanisme d'action antitumorale des flavonoïdes	23
4-4-Propriétés antiallergique	24
4-5- Propriétés anti-inflammatoire	24
4-6- Propriétés antivirale	25
4-7-Propriétés antibactériennes	26
4-8- Propriétés anti-infectieuse.....	26
4-9-Propriétés botaniques... ..	26
4-10-Propriétés antidiabétique.....	27
4-11-Propriétés anti-ulcéreux.....	27
4-12-Propriétés anti-cancérigènes.....	27
5-Techniques instrumentales d'analyses des flavonoïdes.....	28
5-1- Chromatographie : Aspects généraux.....	28
5-1-1- Définition.....	28
5-1-2- Nature des phases.....	29
5-1-2-1- Phase fixe.....	29
5-1-2-2- Phase mobile.....	29
5-2- Chromatographie sur couche mince (CCM).....	29
10-1-1- Définition et appareillage.....	29
10-1-2- Principe de la technique.....	30
10-1-3- Application de la CCM.....	31

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1-Matériel biologique.....	34
2- Présentation du site de prélèvement.....	34

2-1- Situation géographique.....	34
2- Méthodes d'étude.....	35
2-1-METHODES D'EXTRACTION DES FLAVONOÏDES.....	35
2-1-1- Préparation du matériel végétal.....	35
2-1-2- Technique d'extraction des flavonoïdes.....	35
2-2- IDENTIFICATION DES FLAVONOÏDES PAR (CCM)	35
a- Chromatographie analytique sur couche mince (CCM).....	35
a-1- Le principe	35
a-2- Choix des conditions opératoires.....	35
• Choix de la phase stationnaire.....	35
• Choix de l'éluant.....	36
a-3- Dépôt de l'échantillon.....	36
a-4- Développement de la plaque.....	37
a-5- Révélation.....	37
• Révélation aux UV.....	37
• Révélation par méthode chimique.....	37
a-6- Calculs et interprétation.....	38
a-7- Structure des Rf.....	38
a-8- Structure et fluorescence.....	39

Chapitre II : Résultats et discussion

1-Résultats.....	42
1-1- Chromatographie analytique sur couche mince.....	42
1-2-1- Identification par rapport à la littérature.....	42
1-2-1-Le système acétate d'éthyle / méthanol / eau	42
1-2-2- Le système butanol / acide acétique / eau.....	43
1-2-3- Le système chloroforme / acétone / acide formique.....	44
1-2-4- Le système chloroforme / méthanol / eau.....	45
2-Discussion.....	47
2-2- Étude phytochimique par chromatographie sur couche mince.....	47
3- Conclusion.....	48
4- Références bibliographiques	

Figure 1 : Feuilles de <i>Sylibum marianum</i> L.	7
Figure 2: Fleurs de <i>Sylibum marianum</i> L.	8
Figure 3 : Graines libres (a) / Graines avec aigrettes (b).....	9
Figure 4 : Structures des principaux constituants de la silymarine	10
Figure 5 : Squelette de base flavonoïde.....	16
Figure 6 : Squelette de base des flavanes.....	17
Figure 7 : Squelette de base des Flavanones.....	18
Figure 8: Squelette de base des Flavones.....	18
Figure 9 : Squelette de base des Flavonols.....	19
Figure 10 : Squelette de base des Flavononols.....	19
Figure 11 : Squelette de base des isoflavones.....	20
Figure 12 : Squelette de base des flavan-3-ols.....	20
Figure 13 : Squelette de base des flavan-3,4-diols.....	20
Figure 14 : Squelette de base des chalcones.....	21
Figure 15: Squelette de base des aurones.....	22
Figure 16: Localisation géographique des monts du Tessala.....	34
Figure 17: Chromatogramme du système acétate d'éthyle / méthanol / eau.....	43
Figure 18 : Chromatogramme de l'éluant butanol / acide acétique / eau.....	44
Figure 19 : Chromatogramme du système chloroforme / acétone / acide formique.....	45
Figure 20 : Chromatogramme du système de solvant chloroforme / acétone / acide formique.....	46

Tableau 1: Les différents systèmes de solvants utilisés pour la CCM.....	36
Tableau 2: La relation entre le R _f et la structure des flavonoïdes.....	39
Tableau 3: La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes.....	39
Tableau 4: Composés phénoliques identifiés par CCM.....	40
Tableau 5: Résultats de la CCM dans le système acétate d'éthyle / méthanol / eau.....	42
Tableau 6: Résultats de la CCM avec le système butanol / acide acétique / eau.....	43
Tableau 7: Résultats de la CCM avec le système chloroforme / acétone / acide formique.....	44
Tableau 8: Résultats de la CCM avec le système chloroforme / acétone / acide formique.....	46

% : Pourcentage

µl : Microlitre

ml : Millilitre

g : gramme

cm : centimètre

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CC : Chromatographie sur Colonne

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Pression

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

HPLC : Chromatographie Liquide haute Performance

UV : Radiations Ultraviolet

R_f : Rapport frontal

C : Carbone

OH : Hydroxyle

NO : Oxyde Nitrique

H₂O : Eau

Introduction

Générale

Les vertus médicinales attribuées aux plantes orientent les chercheurs sur la présence de principes actifs. Ces molécules qui proviennent du métabolisme secondaire des plantes, sont utilisées par l'homme dans son arsenal thérapeutique. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les flavonoïdes ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale.

De nos jours, plus de 3000 flavonoïdes sont identifiés et se trouvent localiser particulièrement dans les pigments floraux ou dans les feuilles (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes sont reconnus essentiellement pour leur action antioxydante, antidiabétique (Marfak, 2003), modulatrice de l'activité de certaines enzymes, vasculoprotectrice (Vitor *et al.*, 2004) et anti-inflammatoire (Chen *et al.*, 2008).

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels à des fins thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle dans différentes régions du monde.

Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006), d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle.

Par sa grande superficie, l'Algérie est caractérisée par une diversité bioclimatique qui a engendré une diversité des paysages, d'écosystèmes et de ressources naturelles (Ferka-Zazou, 2006). Avec plus de 3000 espèces, notre pays possède une importante richesse floristique dont 232 espèces à usages médicinal, aromatiques et alimentaires (Chenouf, 2005).

La région de Tessala, zone montagneuse de l'Ouest algérien est connue pour sa richesse floristique. Celle-ci est particulièrement développée dans les forêts de la partie sommitale du massif, le Djebel Tessala. Ce secteur a fait récemment l'objet de nombreux travaux se rapportant à l'évaluation de la biodiversité floristique (Baraka, 2008 ; Bessam *et al.*, 2009 ; Bouzidi *et al.*, 2009 ; Cherifi *et al.*, 2011 ; Mokaddem, 2011 ; Bouterfes *et al.*,

2013) et à la valorisation biochimique de certains taxons qui en font partie (Bouterfes *et al.*, 2014 ; Bessam et Mehdadi, 2014 ; Bessam *et al.*, 2016).

A titre complémentaire des travaux suscités et dans le cadre la valorisation de la biodiversité végétale, nous nous sommes intéressés dans ce présent travail à un taxon faisant partie de la phytodiversité des monts de Tessala (wilaya de Sidi Bel Abbès) ; il s'agit de *Sylibum marianum* L., espèce connue communément sous le nom de chardon marie. C'est une plante annuelle appartenant à la famille des Astéracées, courante dans les lieux secs et ensoleillés, très fréquente dans le pourtour méditerranéen.

Les objectifs visés à travers cette thèse consistent à :

- ☀ Evaluer qualitativement les flavonoïdes contenus dans les feuilles de *S. marianum* en utilisant la chromatographie sur couche mince (CCM).

Notre travail est subdivisé en deux parties :

- ☀ La première partie est une revue bibliographique, dans laquelle sont développés deux chapitres se rapportant à la monographie de l'espèce étudiée, aux composés phénoliques et à l'activité biologique de cette plante,
- ☀ La deuxième partie correspond à l'étude expérimentale, dans laquelle sont présentés le matériel végétal étudié, la technique d'analyse adoptée ainsi que les résultats et discussion relatifs à:

L'extraction et l'identification des composés flavonoïques existants.

Notre travail est sanctionné par une conclusion et des perspectives.

PARTI I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

***Sylibum marianum* L.**

Données générales

1- HISTORIQUE

Les Grecs de l'Antiquité connaissaient déjà les propriétés du Chardon-Marie pour traiter les troubles hépatiques et biliaires. Pline l'Ancien recommandait de prendre le jus de la plante mélangé à du miel pour «éliminer les excès de bile». Au moyen Age, on disait que le chardon-Marie pouvait chasser la «mélancolie» qu'on appelait également «bile noire» et qui était associée à diverses maladies d'origine hépatique ou reliées au foie (Steven Foster, 1995).

Au XIXe siècle, les médecins de l'école éclectique américaine l'ont employé pour traiter les varices, les troubles menstruels et les congestions du foie, de la vésicule biliaire et des reins. En Europe, on trouve de nos jours le chardon-Marie dans plusieurs préparations pharmaceutiques destinées au traitement de divers troubles hépatiques et biliaires.

Les Européens l'ont également cultivé à des fins culinaires. On apprêtait les feuilles à la manière des épinards (après en avoir retiré les épines), les jeunes pousses à la manière des asperges, les boutons floraux à la manière des artichauts et les graines torréfiées à la manière du café.

Silybum marianum L. doit son nom à une légende : la Vierge Marie, voyageant d'Égypte en Palestine, aurait donné le sein à l'enfant Jésus près d'un bosquet de chardons. Quelques gouttes de son lait tombèrent sur les feuilles, créant les nervures blanches caractéristiques à cette espèce. Cette légende est peut-être également à l'origine d'une indication traditionnelle, dont l'efficacité n'a jamais été démontrée scientifiquement, qui veut que le chardon-Marie favorise la lactation (Morazzoni et Bombardelli, 1995 ; Lupper, 1998).

Silybum marianum L., isolée en 1968, est considérée comme la substance active qui fournit les effets thérapeutiques de la plante. Il s'agit en fait d'un mélange de substances dont le composé principal est la silybine.

En médecine classique, elle est utilisée pour la prévention et le traitement de divers troubles hépatiques : hépatite, cirrhose, calculs biliaires, ictère (jaunisse) et dommages causés au foie par des substances toxiques (Adam Lonitzer 1679).

2- SYSTÉMATIQUE

La systématique du *Silybum marianum* L. (chardon-Marie) se résume comme suite (Deysson, 1979 ; Anonyme, 1984 ; Guignard, 1998 ; Spichiger et coll, 2000).

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliposida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)
Sous- Famille	Tubuliflores
Genre	<i>Silybum</i>
Espèce	<i>Silybum marianum</i> (L.)

3- NOMENCLATURES

-  **Nom vernaculaire français :** Chardon argenté, Chardon Notre-Dame, Chardon-Marie, Chardon-Marbré, épine blanche, lait de notre dame, Silybe de marie (Messegué, 1975 ; Peris et coll, 1996).
-  **Nom vernaculaire arabe :** chouk el djmel, bou-zeroval ou sùk ez-zerwal, bû-zerwal, Hacoub, et lichilic (Beniston, 1984 ; Belkhada, 1997; Beloued, 1998).
-  **Nom vernaculaire targui ou berbère :** Tawra, dou-j-n'ilour man (Beniston et Beniston, 1984 ; Ben Khada 1997).
-  **Nom vernaculaire en anglais :** Milk thistle, holy thistle, la dy's thistle, marian thistle, st mary thistle, silybum (**Peris et coll, 1996**).
-  **Noms vernaculaires allemands :** Mariendistel (**Peris et coll, 1996**).

4- HABITAT ET ORIGINE

Silybum marianum L. est une plante endémique de la région méditerranéenne (Hauf, 1982 ; Guittonneau et Huon, 1983 ; Volak et Stodala, 1984). Elle est cosmopolite et s'étend de la mer à 700-1100 m d'altitude sur les terrains incultes secs et rocaillieux de toutes l'Europe occidentale et méridionale, ainsi qu'en Afrique du Nord. On la trouve dans les champs, les décombres et les bords des routes (Beniston, 1984 ; Guittonneau et Huon, 1983). *Silybum marianum* L. est également cultivée dans les jardins ornementaux (Roche, 1991).

En Algérie, *Silybum marianum* L. est particulièrement répandue dans les hauts plateaux, la steppe, le sud de l'atlas Saharien, les pâturages sablonneux et les lieux un peu humides (Quenzel et Santa, 1963).

Silybum marianum L. est aujourd'hui répandue en Amérique du Nord, si bien qu'on le trouve tant au Canada qu'au Mexique, la Nouvelle Zélande, l'Australie, l'Afrique du Sud, le Chili et l'Argentine (Sindel, 1991 ; Gabay et Coll, 1994).

5- CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BOTANIKES

Racine

La racine est caractérisée par une racine pivotante, forte, longue, épaisse et fibreuse (Sindel, 1991).

Tige

La tige est généralement ramifiée, atteignant environ 20 à 150 cm de haut, portant peu de feuilles sur la partie supérieure (Hauf, 1982 ; Guittonneau et Huon, 1983 ; Caremes, 1990) (figure 1).

Feuille

Silybum marianum L. est caractérisé par ses grandes feuilles vert pâle brillantes, tachées de blanc, lobées et ondulées, bordées de dents épineuses à pointes jaunes très acérées (Bayer et Buller, 1990 ; Caremes, 1990). Les feuilles de la base sont pétiolées, découpées en lobes à bord dentés épineux, en rosettes, très grandes, d'environ 1 m (Sindel, 1991). Les feuilles supérieures sont plus étroites, réduites à bords moins découpés mais très épineux. Elles présentent toutes de nombreuses nervures blanches donnant l'impression que la feuille est maculée de lait (Caremes, 1990) (Figure 1).



Figure 1 : Feuilles de *Silybum marianum* L. (Cliché : Bessam, 2021)

** Fleur**

Les fleurs sont toutes tubuleuses réunies en capitules terminaux, solitaires, dépassant souvent 6 cm de diamètre, dont la plus part sont pourvus d'une épine atteignant jusqu'à 5 cm et se réfléchissant vers l'arrière (Guittonneau et Huon, 1983 ; Caremes, 1990). La corolle est dentée de couleur pourprée, 5 étamines formant un tube autour du style (Guignard, 1998) (Figure 2).



Figure 2: Fleurs de *Silybum marianum* L. (Cliché : Bessam, 2021)

** Floraison**

La floraison est caractérisée par une inflorescence parsemée de capitule, par une pollinisation autogame et par une répartition hermaphrodite (Guittonneau et Huon, 1983). La période de floraison s'étale du mois d'octobre jusqu'au printemps, elle dure environ deux mois (Dodd, 1989).

** Fruit**

Les fruits sont des akènes luisants, de 6 à 7 mm, plats, lisses, brillants et la couleur s'étend du noir au brun chiné ou marbré de jaune, surmontés d'une aigrette blanche (Guittonneau et Huon, 1983). Les graines ont une aigrette qui tombe quand les graines mûrissent (Sindel, 1991) (Figure 3).

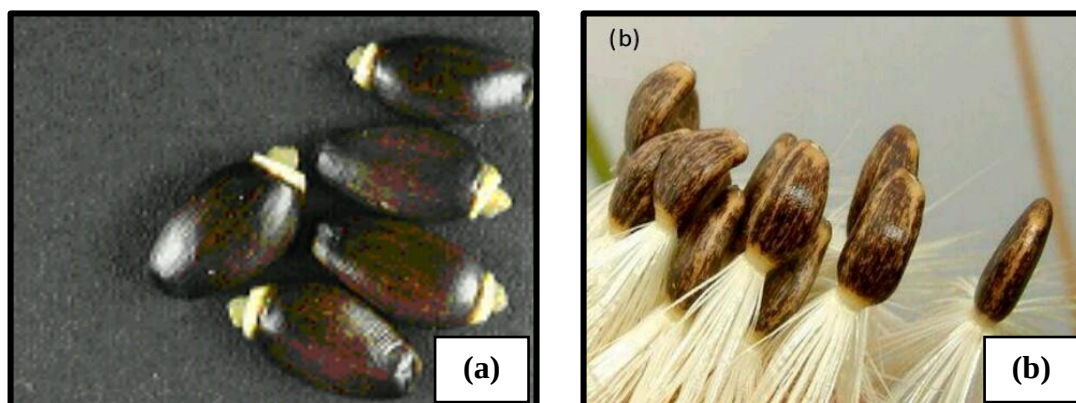


Figure 3 : Graines libres (a)

Graines avec aigrettes (b)

6- CONSTITUANTS CHIMIQUES DES GRAINES

Silybum marianum L. est un végétal riche en composés actifs de point de vue médicinal, ses propriétés sont dues à la présence de la silymarine. La graine de *Silybum marianum* L. contient un taux élevé de silymarine d'où l'intérêt porté à cette partie de la plante (Karkanis *et al.*, 2001).

La graine contient aussi des lipides de 30-20%, des protéines de 25-30% et des minéraux dont les teneurs varient selon l'organe étudié (Saller, 1995 ; Meschy et Guenguen, 1995), avec prédominance d'acide linoléique 60%, d'acide oléique 30% et acide palmitique 9% et des stérols 0,63% (cholestérol, campesterol, stigmastérol et sitostérol) (Meyer et Buchtela, 1999).

Elle contient également 4 à 6 % de silymarine (Saller, 1995) dont 70-80% flavonolignanes et 20-30% de composés polyphénoliques oxydés non identifiés (Svobodova *et al.*, 2006). Il s'agit notamment de la silybine (silybine A, silybine B), la silychristine, la silydianine et la taxifoline (Figure 4) et l'isosilybine (isosilybine A, isosilybine B) (Anonyme, 1995), ce sont les principaux composés responsables de l'action thérapeutique de la plante.

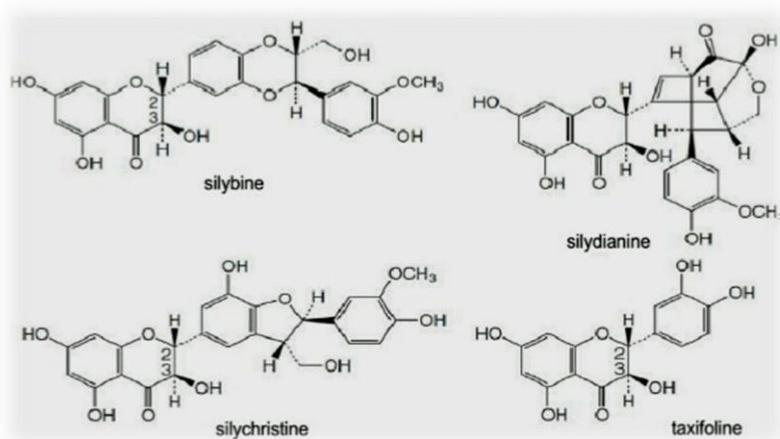


Figure 4 : Structures des principaux constituants de la silymarine (Pierre, 2010)

Mis à part ces flavanolignanes principaux, le fruit contient également d'autres flavanolignanes en plus faible quantité (déhydrosilibinine, désoxysilibrustine, silymonine, siliandrine, silybinome, silyhermine et néosilyhermine) (Halbach et Gorler, 1971).

L'akène de *Silybum marianum* L. contient 1,5 à 3% de flavanolignanes dont le mélange porte le nom de silymarine et qui constitue les molécules les plus actives du chardon-Marie. Il contient aussi des flavonoïdes : quercétol, taxifoline, éryodictyol, chrysoériol et quelques autres (notamment du dihydrokaempférol, du kaempférol, de l'apigénol et du naringéol) qui présentent eux aussi des propriétés intéressantes (Mouillé, 2014).

Silybum marianum L. présente des teneurs élevées en calcium dans tous les organes du végétal (feuilles, graines, tige, racines) ce qui donne à cette plante une valeur alimentaire très importante (Amrani, 2006). Les feuilles se distinguent par des teneurs importantes en sodium, en magnésium et en calcium alors que la tige est riche en potassium (Amrani, 2006).

7- PROPRIÉTÉS DE LA PLANTE

Le fruit du *Silybum marianum* L. est hépatoprotecteur, détoxifiant, hépatique et cholagogue : c'est-à-dire qu'il protège le foie et limite la survenue de cirrhoses ou d'hépatites (Feher, 1989 et Luper, 1998), il active l'épuration du foie (Zhao, 1999 ; Gurley, 2006 et Jancova, 2007) et qu'il favorise l'élimination de la bile (Crocenzi, 2006).

De plus, *Silybum marianum* L. à une action complémentaire, anti-inflammatoire (Manna, 1999 ; Rainine, 2005 et Pradhan, 2006) et anti- diabétique (Velussi, 1997 et Fallah, 2006). Il favoriserait aussi la lactation.

Silybum marianum L. fût très employé par la médecine traditionnelle, et plus tard en homéopathie. La racine et les parties aériennes possèdent des propriétés amères, apéritives, toniques, fébrifuges et résolutives. Elles sont utilisées contre les maladies du foie, de la rate, la jaunisse et la constipation chronique.

Les préparations se font soit sous forme de décoction, ou macération à raison de 20g par litre d'eau, qu'on laisse bouillir 10 mn à petit feu. Prendre un verre de tisane chaque matin. Les semences peuvent être aussi utilisées. La dose est de 16 g de semences concassées dans 1 litre d'eau qu'on laisse bouillir pendant 10 min. Prendre une cuillerée à soupe matin et soir. Les jeunes feuilles débarrassées de leurs épines, les tiges et les capitules charnus, cuits, peuvent être employés comme légume.

8- UTILISATION PHARMACEUTIQUE

L'extrait de *Silybum marianum* L. est utilisé en médecine traditionnelle depuis 2000 ans. Le fruit n'est pas cité dans la pharmacopée européenne actuellement en vigueur, par contre il se trouve dans le DAB 9 (pharmacopée Allemande Hartek, 1987).

Les graines de *Silybum marianum* L. sont probablement parmi les meilleurs régénérateurs du foie. Les mécanismes d'action du chardon-Marie ne sont pas encore élucidés. On lui reconnaît un effet antioxydant, anti-inflammatoire et anti-prolifératif, anticancéreux, l'action hépatoprotectrice, quoique cliniquement démontrée, n'est pas encore expliquée (Gupta et coll, 2000 ; Jiang et coll, 2000 et Bhatia et Agarwal, 2001).

Une étude sur des patients recevant un médicament pour la maladie d'Alzheimer, la tacrine, démontre que le *Silybum marianum* L. diminue les effets secondaires gastro-intestinaux et cholinergiques du médicament (Allain et Schuck, 1999).

Une étude effectuée sur des travailleurs exposés à des solvants industriels hépatotoxique (toluène), a démontré le potentiel détoxiquant du *Silybum marianum* L. Après 30 jours de traitement, tous les paramètres de fonction hépatique (enzymes sanguins) et les plaquettes s'étaient améliorés significativement (Szila et coll, 1988).

Plusieurs rapports mentionnent l'efficacité de *Silybum marianum* L. dans le traitement des empoisonnements à l'amanite (Carducci, 1996).

Sa teneur élevée en acides gras insaturés lui permet d'entrer dans les régimes anti-cholestérol et pour la prévention des maladies cardio-vasculaires (Venkataraman, 2000).

9- UTILISATION COSMÉTIQUE

La cosmétique utilise les propriétés de l'huile végétale de *Silybum marianum* L. pour régénérer, nourrir et prendre soin de la peau, des cheveux et des ongles. Cette huile végétale est un bijou à intégrer dans les soins cosmétiques anti-âge, dans les soins cosmétiques pour les peaux sensibles et atopiques. Elle est également utilisée dans les produits de protection solaire, et pour réduire le mécanisme provoquant la chute des cheveux. (Leenheer, 2014).

En cas de soin anti-âge

L'huile végétale de *Silybum marianum* L. est reconnue pour ses bienfaits anti-âges grâce à sa richesse en vitamine E notamment. Il s'agit d'un composé aux propriétés anti-oxydantes majeures. De plus, sa composition en acides gras essentiels permet une meilleure régénération cellulaire. En prévention des rides et ridules, cette huile végétale apportera un meilleur confort à la peau (Pobeda, 2014).

Conseil d'application : massez quelques gouttes d'huile matin et soir sur votre peau. Il est également possible d'obtenir son effet antioxydant par voie interne en ingérant une cuillère à café d'huile chaque matin (Pobeda, 2014).

En cas des peaux sèches, fragilisées, dermatoses et acné

L'huile végétale de *Silybum marianum* L. est particulièrement adaptée en cas de peau sèche et de peau fragilisée et tiraillée. Cette huile est riche en acides gras insaturés et essentiel permettant d'apporter soin et protection à la peau. Elle est légère et elle pénètre rapidement la peau tout en maintenant son hydratation. Sa richesse en vitamine E et en phytostérols permet également d'améliorer l'élasticité de la peau tout en soulageant les problèmes cutanés type acné, dermatoses, etc.

Conseil d'application : massez quelques gouttes d'huile végétale matin et soir sur votre peau sèche (Pobeda, 2014).

En cas de cheveux secs, cassants, pousse des cheveux

L'huile de *Silybum marianum* L. sera nourrissante pour des cheveux secs cassants et fragilisés. On peut toujours compter sur ces fameux acides gras.

Conseil d'application : appliquer en masque avant shampoing l'huile sur les pointes et les longueurs. Laisser poser plusieurs heures voire une nuit entière puis procéder à un shampoing (Dabbour, 2014).

CHAPITRE II

Composés phénoliques

1-INTRODUCTION

Sous la désignation de composés phénoliques on désigne un vaste ensemble de substances qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Macheix, 1996).

Les composés phénoliques (ou polyphénols) représentent un groupe de métabolites secondaires affichant une grande diversité de structures, très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure, ils peuvent aller des molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins (Macheix, 1996 ; Regnault *et al.*, 2008).

Les composés phénoliques jouent un rôle dans le métabolisme de la plante, contribuent à la qualité organoleptique (couleur, astringence, arôme, amertume) et nutritionnelle des végétaux que consomme l'homme (Visioli, 2000), et participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessure) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, température basse) (Dicko, 2006).

Les polyphénols sont communément subdivisés en flavonoïdes (flavones, flavonols, anthocyanidines, isoflavones, flavonones, catéchines) ou non-flavonoïdes (resvératrol, acides phénoliques, lignanes).

Les flavonoïdes font partie d'une classe de composés naturels largement répandue chez les végétaux. Ils sont très présents dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs de plante, et présents dans les aliments d'origine végétale (légumes, céréales, légumineuse, fruits, etc.) et les boissons (vin, thé, cidre bière, cacao, etc.). Cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génétiques et des conditions environnementales (Lugasi *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes sont facilement extractibles, presque toujours hydrosolubles et, ont constitué une source de colorants dès l'antiquité, ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Par conséquent, dès que la chimie organique moderne a commencé à se développer, les flavonoïdes ont été très largement étudiés et leur chimie est bien connue (Évrard, 2003 ; Bruneton, 2009).

2-STRUCTURE CHIMIQUE DES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes sont des métabolismes secondaires des végétaux. Ils constituent un des plus vastes groupes de polyphénols naturels et présentent un large champ d'activité biologique aussi bien chez les animaux que chez les végétaux (Richter, 1993 ; Stevens, et coll, 1998).

Les flavonoïdes sont des composés de la série C₆-C₃-C₆ ayant deux noyaux aromatiques A et B, unis par un pont à trois carbone (Figure 5). L'élément commun de ces composés, dont plusieurs milliers ont été décrits, est d'être rattaché à un noyau de base : le 2-phényl-chromane (Bruneton, 1987).

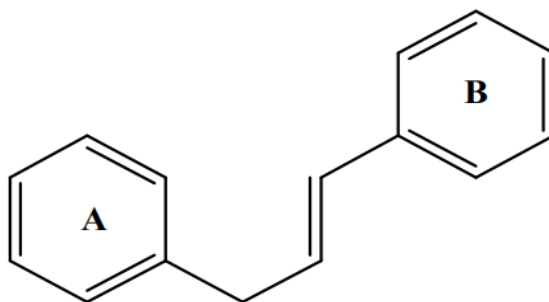


Figure 5 : Squelette de base flavonoïde

La numérotation des atomes commence par l'hétéroatome d'oxygène avec passage au noyau A ; les deux atomes communs au cycle A et à l'hétérocycle ne sont pas numérotés, car toutes les valences sont occupées dans la structure des cycles et aucun atome ou radical supplémentaire ne pourra s'y ajouter. Dans le noyau B, la numérotation est indépendante et commencer par le carbone lié au pont ou à l'hétérocycle (Rakipov, 1987). Il faut signaler que la numérotation est différente chez les chalcones et les aures.

Le noyau A est habituellement substitué en 5 et en 7 ; un troisième oxygène, libre chez les chalcones en 6' est engagé dans le pont éther du pyranne ou du furanne central (2-benzylcoumaranes). Plus rarement, il est monosubstitué ou, au contraire, polysubstitué ; occasionnellement il peut être prénylé ou alkylé par un ose (Bruneton, 1987).

Le noyau B, dans la majorité des cas, est substitué par une fonction hydroxyle (en para) ou par deux (en méta et para). Une troisième substitution n'est pas rare (une en para et deux en méta), mais l'absence de substitution est exceptionnelle (Bruneton, 1987).

3-CLASSIFICATION DES FLAVONOÏDES

Selon la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle, les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs classes. Nous allons d'abord classer les génines et ensuite nous évoquerons les sucres et leurs modes de liaison.

Plus de 9000 structures naturelles ont été isolées et caractérisées. Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central. Ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, flavonols, flavanones, dihydroflavonols, isoflavones, isoflavones, flavanes, flavanols et anthocyanines (Bruneton, 1999 ; Marfak, 2003 ; Skerget *et al.*, 2005).

Les principaux groupes peuvent être définis et différenciés comme suit :

3-1- Flavane

Les flavanes sont sous forme de monomères (ex : la catéchine) ou sous forme de polymères (dimères, trimères... de catéchine). Ils existent sous forme de plusieurs stéréoisomères provenant de deux carbones asymétriques : C2 et C3. Les flavanes sont très répandues dans les écorces végétales (Figure 6) (Jakupovic *et al.*, 1988).

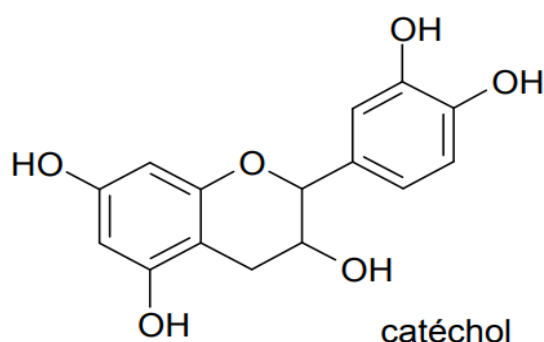


Figure 6 : Squelette de base des flavanes

3-2- Flavanone

Les flavanones se caractérisent par l'absence de la double liaison entre le C2 et le C3 et par la présence des centres d'asymétrie. Les variations structurales sont ici de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols (Ono *et al.*, 2006) (Figure 7).

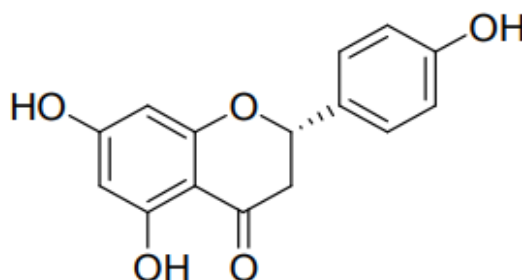


Figure 7 : Squelette de base des Flavanones

3-3- Flavone

Les flavones sont des composés organiques dérivés de la 1-benzopyran-4-one (ou chromone). Ces composés se caractérisent par la présence d'une double liaison C2-C3. Les flavones sont de couleur jaune, les dérivés hydroxylés et/ou méthoxylés sont fréquents (Alais et Linden, 1997) (Figure 8).

Les flavones, particulièrement abondantes chez les légumineuses (fabales) dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle (Heller *et al.*, 1998). Ils sont parfois présents sous forme d'hétérosides solubles dans l'eau. On les trouve parfois comme co-pigment avec les anthocyanes (Carmak, 2006).

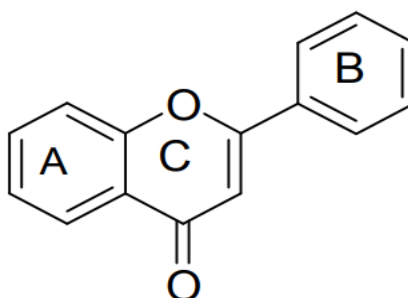


Figure 8: Squelette de base des Flavones

3-4- Flavonol

Les flavonols ou 3-hydroxyflavones sont toujours glycosylés par différence avec les anthocyanidines, le groupement glucidique est le plus souvent relié en position 7 (Alais et Linden, 1997). Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C4. Ce sont des dérivés de 2-phényl-3-chromanol (Bruneton, 1999) (Figure 9).

Les flavonols se distinguent des flavones par un OH en C3 (Morrel *et al.*, 2006).

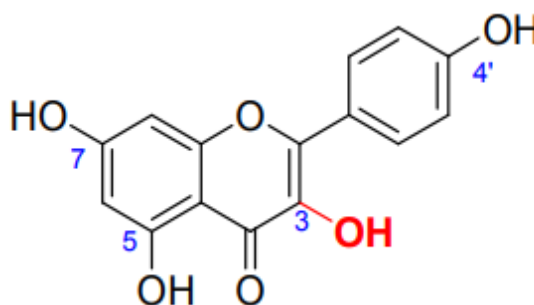


Figure 9 : Squelette de base des Flavonols

3-5- Flavanonol

Les flavanonols ou dihydroflavonols sont incolores, ils ont un OH en position 3 de plus que les flavanones. Et diffèrent des flavanones par l'existence de deux groupements hydroxyles en C3 et C`3 (Pierpoint, 1986). Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C3 (Figure 10).

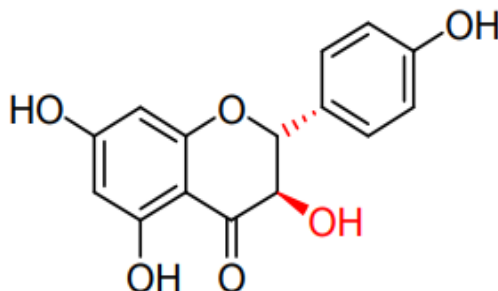


Figure 10 : Squelette de base des Flavanonols

3-6- Isoflavone

Les isoflavonoïdes sont moins répandus taxonomiquement. Ces composés très actifs se trouvent essentiellement chez les légumineuses (Harborne, 1994). Ce sont les isomères de flavone, avec une structure quasi identique, la seule différence étant la position du groupe phényle, lié au carbone 3 au lieu du carbone 2 pour les flavones. La structure des isoflavones ne diffère des autres flavonoïdes que par la présence du cycle B en position 3 (Figure 11). Dérivent aussi des flavonones, mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C-2 au C-4 de l'hétérocycle (Heller *et al.*, 1998).

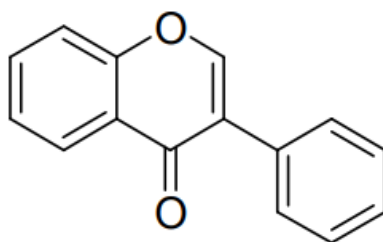


Figure 11 : Squelette de base des isoflavones

3-7- Les flavanes-3-ols

Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols, Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols) (Figure 12) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols) (Figure 13). Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés (Bruneton 1999).

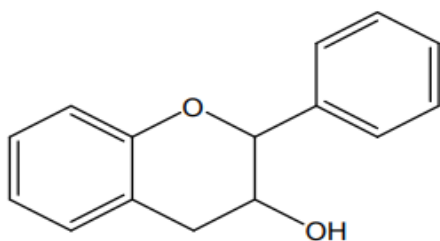


Figure 12 :
Squelette de base des flavan-3-ols

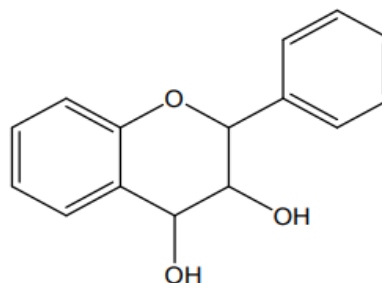


Figure 13 :
Squelette de base des flavan-3,4-diols

3-8- Les chalcones

La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)- flavanone-3-hydroxylase pour donner les flavones : apigénine, dihydroflavonol et (2R-3R)-dihydrokaempférol respectivement (Ono *et al.*, 2006 ; Seeram *et al.*, 2006). Les chalcones présentent un chaînon tricarboné α,β insaturé à la place de l'hétérocycle (Markham, 1982).

Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le 17 cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes (Bruneton 1999 ; Ono *et al.*, 2006) (Figure 14).

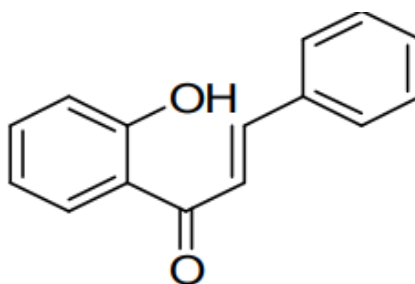


Figure 14 : Squelette de base des chalcones

3-9- Aurones

Les aurones sont caractérisés par la présence de deux atomes de carbone dans l'hétérocycle (Markham, 1982). Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumarone (Bruneton 1999, Ono *et al.*, 2006) (Figure 15).

Les aurones (2-benzylidène benzofuran-3 (2H) –ones) sont des composés naturels ou synthétiques appartenant à la famille des flavonoïdes. Les aurones jouent un rôle important dans la pigmentation de certaines fleurs et fruits et contribuent notamment à la couleur jaune vif des fleurs (Zwergel *et al.*, 2012).

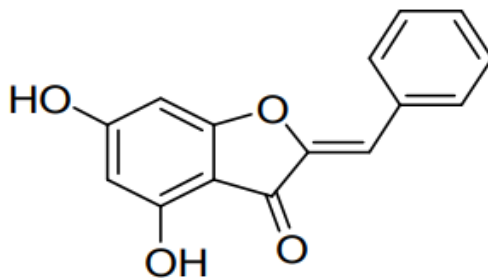


Figure 15: Squelette de base des aurones

3-10- Les anthocyanines ou anthocyanosides

Les anthocyanosides sont des molécules ionisables (Alais et Linden, 1997), rouge en milieu acide, violet en milieu neutre et bleu en milieu alcalin. Elles sont présentes dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides (Brunton, 1987; Ikan, 1969).

Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle (OH) en position 3 (C3) dans une liaison hétérosidique. On trouve parmi ces composés, le pélargonidol-3-O-glucoside et le cyanidol-3-O-rutinoside ou kéraucyanine (Bruneton 1999).

3-11- Les flavonolignanes

Les flavonilignanes sont des phénols naturels composés d'une partie de flavonoïde et d'une partie de phénylpropane.

4- PROPRIÉTÉS DES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes possèdent plusieurs propriétés thérapeutiques, certaines établies depuis longtemps, par leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques multiples.

4-1- Propriétés antioxydante

Les antioxydants sont largement utilisés dans la prévention primaire et secondaire, les plus connus sont le β -carotène, l'acide ascorbique, le tocophérol, les tanins, les anthocyanes, les acides phénoliques, le lycopène et les polyphénols (Bjelakovic *et al.*, 2007). Ils ont la capacité de piéger les radicaux libres générés par notre organisme en réponse aux agressions de l'environnement (cigarette, polluants, infectieux, etc.) qui favorisent le vieillissement

cellulaire. Les antioxydants renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires.

Le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux (Halliwell, 1994). Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle $\text{OH}\bullet$, l'anion superoxyde $\text{O}_2\bullet$, l'oxyde nitrique $\text{NO}\bullet$...). Ils sont produits naturellement dans l'organisme :

-  au niveau de la respiration mitochondriale lorsque l'oxygène échappe à la réduction complète en H_2O .
-  au niveau de certains organites cellulaires tels que les peroxysomes ;
-  par diverses oxydases cellulaires ;
-  au cours de la phagocytose.

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait, à l'heure actuelle, l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols (Subirade, 1995)

Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman, 1995).

4-2- Propriétés pro-oxydante des flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. Ainsi, ils seraient capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) aboutissant à la formation de radicaux hydroxyles par réaction entre Fe^{2+} et $2 \text{H}_2\text{O}$.

4-3- Mécanisme d'action antitumorale des flavonoïdes

Le mécanisme d'action antitumorale de flavonoïdes est variable et dépendant de la structure chimique de ces molécules induisant des propriétés biologiques et des mécanismes d'action différents (Di Carlo *et al.*, 1999).

4-4- Propriétés antiallergique

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMFc phosphodiesterase et la Ca^{++} ATPas.

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (Dunstan, 2003).

Ces effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca^{2+} dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Marfek, 2003).

4-5- Propriétés anti-inflammatoire

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols du cacao, peuvent prévenir la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils éliminent la synthèse de l'oxyde nitrique, déclencheur chimique de l'inflammation. Il a été également démontré que d'autres flavonoïdes inhibaient la sécrétion des mastocytes impliqués dans les phénomènes inflammatoires (Fleuriet *et al.*, 2005), cette activité concerne de nombreux composés phénoliques et en premier lieu l'acide salicylique sous sa forme acétylé (acétyle salicylique) commercialisée sous le nom d'aspirine. Ainsi que certains anthocyanes, la cyanidine extraits de cerises, les flavonoïdes des agrumes (Manthey, 2000).

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Da silva, 1994), et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T. Cet effet des flavonoïdes sur les lymphocytes B ou T peut être variable: en effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que

seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. L'explication est encore inconnue. L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) (Mookerjee, 1968).

4-6- Propriétés antivirale

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

-  au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte.
-  au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte.
-  au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales.
-  au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours (Vrijssen, 1988 ; Mucsi et Pragai, 1985), ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase. Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. Il a été étudié l'impact des flavonoïdes sur la « reverse transcriptase ».

Les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de cette enzyme (Spedding, 1989). Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale (Ono, 1990).

Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gpl 20), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (Mahmood, 1993). Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1. Cette enzyme permet

l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte. Des études structure-activité devraient permettre de montrer quelles sont les molécules les plus actives (Fesen, 1994).

En fait, il semble que l'intérêt éventuel des flavonoïdes ou d'autres micro-nutriments pour combattre le virus du SIDA n'ait pas été suffisamment approfondi. Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase (Ohemeng, 1993). Une étude a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un *staphylococcus aureus*.

4-7- Propriétés antibactériennes

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la chélation de métaux tels que le fer et l'inhibition du métabolisme microbien.

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve.

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloaceae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* etc. (Didrak 1999, Modak 2001, Okigbo *et al.*, 2005), *Staphylococcus aureus* (Babayi *et al.*, 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska *et al.*, 2006),

4-8- Propriétés anti-infectieuse

Les flavonoïdes accélèrent le processus de destruction des agents pathogènes en améliorant la capacité des macrophages à les neutraliser. La transformation des macrophages en antigène est donc plus rapide et les lymphocytes-T peuvent intervenir avec plus d'efficacité (Fleuriet *et al.*, 2005).

4-9-Propriétés botaniques

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes, puis ils migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Ils interviennent comme constituants des chromoplastes (Bruneton, 1933). La plante fabrique des flavonoïdes pour se protéger de l'oxydation et c'est le rayonnement solaire qui stimule cette réaction. Plus l'ensoleillement augmente, plus les teneurs en flavonoïdes augmentent, surtout dans les parties les plus

exposées. Ils servent également à attirer l'attention des insectes pollinisateurs, ou au contraire à dessiner des formes pour éloigner les prédateurs, certains flavonoïdes sont même toxiques pour les insectes.

4-10-Propriétés antidiabétique

En raison de ses propriétés antioxydantes et son utilisation dans le traitement des désordres hépatiques, la Silymarine est utilisée pour décliner la glycémie chez des diabétiques. Une équipe de chercheurs de l'hôpital Ortonfalco à Gorizia en Italie a traité 60 patients diabétiques pendant 12 mois avec 600 mg de Silymarine ou un placebo (Anonyme, 1998).

D'autres études cliniques ont montré également l'efficacité de la Silymarine dans la régulation de la glycémie sanguine, qui descend d'une moyenne de 190 mg/dl à 174 mg/dl.

La Silymarine stabilise la glycémie en même temps qu'elle la diminue (Nutranews, 2003).

4-11-Propriétés anti-ulcéreux

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes (Di carlo, 1999).

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (Izzo, 1996). En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastrointestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

4-12-Propriétés anti-cancérigènes

La quercétine est capable de diminuer, chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthylbenzanthracène) ou la NMU (Nnitrosométhylurée) (Verma, 1981). Les études réalisées chez la souris abondent dans le même sens et mettent en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs des tumeurs (Kato, 1983). L'action antitumorale de la quercétine pourrait aussi

s'expliquer par une interaction de celle-ci avec le complexe calcium-calmoduline (Nishino, 1984), qui jouerait aussi un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs de tumeur. C'est ainsi qu'un antagoniste de la calmoduline inhiberait l'induction de l'ODBC (Ornitine Décarboxylase) par le TPA (12-0-tétradécanoylphorbol-13-acétate) (Verma, 1981). Le complexe calcium-calmoduline pourrait faciliter l'action du TPA en augmentant la synthèse d'ADN dans les cellules de foie (Boynton, 1982).

Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des xénobiotiques (Wattenberg, 1983), notamment en stimulant les systèmes de détoxification (Bu-abbas, 1995).

En donnant à des rats ou à des souris une alimentation contenant des flavones ou de la quercétine, on peut observer des effets chimio-préventifs à divers niveaux, et en particulier au niveau du foie par une stimulation de la glutathion-S-transférase (Nijhoff, 1995).

Enfin, les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes intervenant dans l'activation des pro- carcinogènes en intermédiaires mutagènes et carcinogènes (Obermeier, 1995). Les résultats dans ce domaine sont difficiles à interpréter car les flavonoïdes semblent avoir des effets divers sur l'activité des enzymes de détoxification (Lasker, 1984).

5-TECHNIQUES INSTRUMENTALES D'ANALYSES DES FLAVONOÏDES

5-1- CHROMATOGRAPHIE : ASPECT GÉNÉRAUX

5-1-1- Définition

La chromatographie de manière générale est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile (Audigié, 1995 ; Edith *et al.*, 1998).

Selon la technique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différentes dans chaque phase (Edith *et al.*, 1998).

Il existe plusieurs méthodes de séparation chromatographique en fonction de l'objectif fixé au préalable et de la faisabilité de la méthode.

La chromatographie sur colonne (C.C), sur couche mince (C.C.M) ou sur papier (C. papier). Enfin, on peut considérer également la chromatographie liquide à haute pression (C. L. H. P) et la chromatographie en phase gazeuse (C. P. G), qui se présentent comme étant des

techniques instrumentales basées sur les mêmes principes que ceux de la chromatographie classique.

5-1-2- Nature des phases

La chromatographie englobe une série de techniques qui ont en commun la séparation des composants d'un mélange. L'échantillon à séparer est entraîné par un courant de phase mobile (gaz ou liquide) le long d'une phase stationnaire (papier ou silice...) (Giddings, 2002).

Phase fixe

La phase fixe peut être solide ou liquide. Les solides permettent la séparation des composants des mélanges grâce à leurs propriétés absorbantes. Les liquides peuvent être employés comme remplissage d'une colonne (chromatographie par gravité et chromatographie à haute pression) ou étalée en couche mince sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille de matière plastique (chromatographie sur couche mince).

Ainsi, en chromatographie sur papier, la phase fixe est formée par l'eau que les molécules de cellulose du papier absorbent, alors qu'en chromatographie en phase gazeuse, elle est constituée d'un liquide peu volatil et thermiquement stable imprégnant un granulé poreux.

Phase mobile

La phase mobile est soit un gaz (ex: chromatographie en phase gazeuse), la phase mobile est appelée gaz vecteur ou gaz porteur. Soit un liquide (ex: chromatographie sur papier, couche mince ou colonne), la phase mobile est appelée éluant (Marchal, 1998).

5-2- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

5-2-1- Définition et appareillage

La chromatographie sur couche mince (C.C.M) est une chromatographie de partage ; elle est basée sur la différence de solubilité des substances à séparer dans deux fluides parfaitement miscibles (René, 2002). Le facteur principal qui intervient est le coefficient de partage entre chaque phase. Les substances les plus solubles dans la phase mobile se déplacent plus facilement que celles qui le sont moins (Audigié, 1995).

La C.C.M. est une technique d'analyse très utile et simple à mettre en œuvre, on l'utilise en général au cours de la séparation et de l'identification des métabolites, pour suivre l'avancement d'une réaction, pour connaître la composition d'une fraction séparée ou pour visualiser la pureté d'un produit (Edith *et al.*, 1998). Les adsorbants les plus employés sont par ordre d'importance décroissante: le gel de silice, le kieselguhr et la cellulose.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

-  **La cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
-  **La phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 μm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
-  **L'échantillon** : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposer en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
-  **L'éluant** : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

5-2-2- Principe de la technique

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (Marchal, 1998).

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption (Marchal, 1988).

Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

5-2-3- Application de la CCM

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur. De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction (Marchal, 1998).

PARTI II

Etude expérimentale

CHAPITRE I

Matériels et méthodes

1-MATÉRIÈL BIOLOGIQUE

Notre choix a porté sur les feuilles de *S. marianum* L. qui constituent l'une des parties de la plante la plus intéressante, vu sa richesse en principes actifs ayant des propriétés médicamenteuse et curative (Anderson et Fletcher, 2001 ; Ody, 2002). C'est la partie majoritairement utilisée en phytothérapie et inscrite dans la pharmacopée.

La récolte des feuilles a eu lieu au mois d'avril au niveau des monts de Tessala (wilaya de Sidi Bel Abbés), qui font partie de l'atlas tellien dans une station de latitude nord $35^{\circ}16'16''$, de longitude ouest $0^{\circ}45'48''$ et d'altitude 792 m.

2- PRÉSENTATION DU SITE DE PRÉLÈVEMENT

2-1- Situation géographique

Les monts de Tessala présentent une grande diversité biologique, ils sont situés au nord de la wilaya de Sidi Bel Abbés, limités au nord par la plaine de la Mleta et la sebkha d'Oran, à l'est par les monts des Béni Chougrane, à l'ouest par les monts de Sebaa Chioukh et au sud par la plaine de Sidi Bel Abbés. Les monts de Tessala font partie de l'Atlas tellien, ils s'étirent du sud-ouest au nord-est sur une distance de 50 à 60 km (Kiekken, 1962) (figure 16).

La hauteur des reliefs, relativement aplanis, s'établit entre 500 et 1 000 m d'altitude en culminant à 1061 m au djebel Tessala. Le versant sud apparaissant moins abrupt que le versant nord, ils ont des pentes fortes fréquemment supérieures à 25% sur l'ensemble du djebel Tessala (Bneder, 1990).

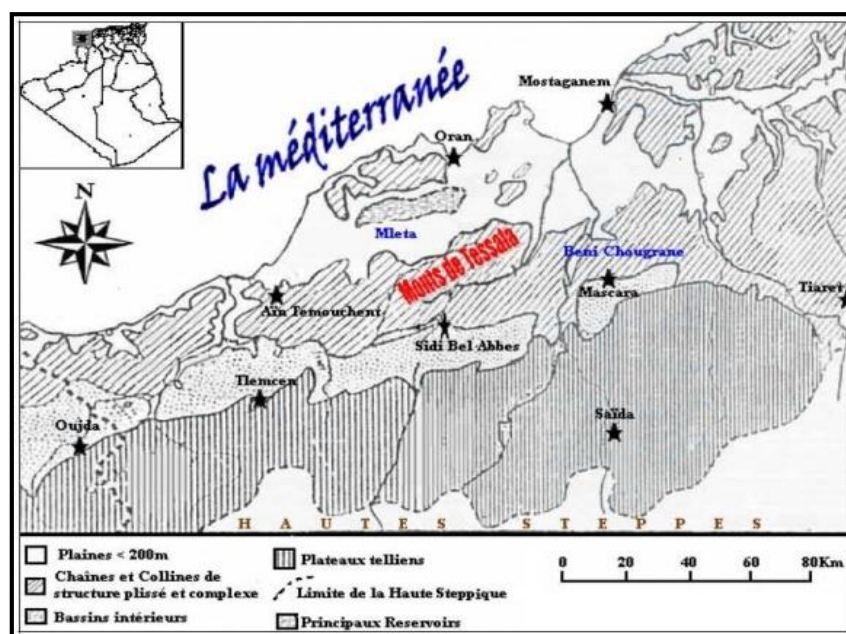


Figure 16: Localisation géographique des monts du Tessala (Kiekken, 1962)

2- MÉTHODES D'ÉTUDE

2-1- MÉTHODES D'EXTRACTION DES FLAVONOÏDES

2-1-1- Préparation du matériel végétal

Les feuilles prélevées sont nettoyées, lavées à l'eau distillée puis séchées à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours, pour être ensuite pulvérisées à l'aide d'un broyeur. La poudre de feuilles est conservée dans un flacon sombre à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'aux analyses. Toutes ces opérations permettent de pallier la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités enzymatiques responsables de leur dénaturation.

2-1-2- Technique d'extraction des flavonoïdes

La procédure suivie est celle appliquée par (Araqas, 2013).
10 g de matériel végétal sont macérés sous agitation dans 200 ml de méthanol pendant 48h. Le macérât est filtré sur papier filtre.

2-2- IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DES FLAVONOÏDES PAR CHROMATOGRAPHIE ANALYTIQUE SUR COUCHE MINCE (CCM)

a- Chromatographie analytique sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est à la fois une méthode de séparation et d'identification des divers constituants d'un mélange. Elle nous permet de mettre en évidence les différentes familles des flavonoïdes en fonction de leur façon de migrer dans des conditions données. La CCM est la plus simple, efficace et rapide des méthodes chromatographiques, elle associe la sensibilité à la simplicité (Wink, 1999).

a-1- Le principe

Elle consiste à placer sur une feuille de (gel de silice, de cellulose, polyamide ou gel de séphadex), une goutte de l'extrait méthanolique de la laisser éluer dans un mélange de solvant (éluant), qui va diffuser le long du support. La tache de la goutte migre verticalement sur la feuille en fonction de la polarité des substances, de la polarité de l'éluant (phase mobile), du pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire et des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant.

a-2- Choix des conditions opératoires

choix de la phase stationnaire

Dans notre étude, nous avons choisi un support le plus courant en gel de silice d'épaisseur 0.25 mm en couche fine, monté sur une plaque d'aluminium (60 F254 Merck). Ces plaques possèdent un colorant incolore en lumière naturelle, mais de couleur verte en UV absorbant à 254nm.

choix de l'éluant

Le choix de l'éluant est essentiel, il est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants dans des proportions bien établies. Une méthode simple pour trouver l'éluant approprié, consiste à préparer des solutions de l'échantillon dans différents solvants.

Pour cela différents systèmes d'un mélange de solvants polaires ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations. L'éluant est celui qui, lorsqu'il a terminé sa migration, a entraîné le soluté à une distance d'environ la moitié de celle qu'il a parcourue (Marchal, 1998).

Dans notre travail, nous avons utilisé les systèmes de solvants suivants : chloroforme / acétone / acide formique (75 / 16.5 / 8.5 ml : V / V / V) ; chloroforme / méthanol / eau (90 / 10 / 20 ml : V / V / V) ; acétate d'éthyle / méthanol / eau (50 / 20 / 10 ml : V / V / V) ; butanol / acide acétique / eau (40 / 50 / 10 ml : V / V / V) utilisés dans les travaux de Widmer (1999) et Kechar (2007) (tableau 1).

CCM sur gel de silice		
Système solvants	Proportions	Références
Acétate d'éthyle / méthanol / eau	(50 / 20 / 10 ml) (V / V / V)	Kechar, (2007)
Butanol / acide acétique / eau	(40 / 50 / 10 ml) (V / V / V)	Kechar, (2007)
Chloroforme / acétone / acide formique	(75 / 16.5 / 8.5 ml) (V / V / V)	Widmer, (1999)
Chloroforme / méthanol / eau	(90 / 10 / 20 ml) (V / V / V)	Widmer, (1999)

Tableau 1: Les différents systèmes de solvants utilisés pour la CCM

a-3- Le dépôt de l'échantillon

Nous avons découpé une plaque CCM, de dimension 8cm × 5cm sur laquelle nous avons tracé au crayon un trait à 1cm du bord inférieur de la plaque. Sur ce trait, on trace à l'aide d'un crayon un petit point à 1cm de distance. Il est important que le diamètre de la tâche produite au moment du dépôt soit faible; idéalement, il ne devrait pas dépasser 3 mm.

Pour augmenter la quantité déposée, il est toujours préférable d'effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement entre chaque application, plutôt que de déposer en une seule fois un grand volume d'échantillon qui produirait une tâche plus large (Marchal, 1998).

L'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire, en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant, en prenant soin de ne pas le détériorer. 5µl de l'extrait est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur à usage unique, et déposé perpendiculairement et prudemment sur chaque point. Il faut sécher après chaque dépôt avec un sèche cheveu, ou laisser sécher à l'air libre.

a-4- Développement de la plaque

Le développement consiste à faire migrer le solvant sur la plaque. Dans les analyses usuelles de laboratoire, le principal type de développement est la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve, et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,5 cm du fond de la cuve; on place souvent du papier filtre contre les parois de la cuve pour saturer plus rapidement la cuve en vapeurs d'éluant. Pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir (Marchal, 1998).

a-5- Révélation

L'identification des substances isolées se fait selon différentes méthodes :

révélation aux UV

Toutes les substances ayant une absorption dans la région au-dessus de 230 nm, sont étudiées sur des supports additionnés de corps fluorescents par irradiation de lumière UV à ondes courtes ($L_{max} < 254 \text{ nm}$). L'emploi de couches non additionnées de produits fluorescents, permet aussi la mise en évidence de beaucoup de substances dans l'UV à ondes courtes ou à ondes longues ($L_{max} > 366 \text{ nm}$) par suite de la fluorescence propre des composés (Marchal, 1998).

Révélation par méthode chimique

Si les substances sont incolores, elles sont directement colorées à l'aide de révélateurs afin de les transformer en tâches colorées; les produits sont souvent décelés par réaction chimique avec les substances à révéler (Latifou, 2005) : les acides aminés par la ninhydrine

qui donne avec la plupart une couleur bleu-violet, les acides organiques par des indicateurs colorés, les sucres par le réactif de Molisch qui utilise le pouvoir réducteur des sucres.

Dans notre travail, la visualisation des taches (spots) de flavonoïdes a été faite sous UV à 254 nm dans une chambre noire après avoir séché les plaques à l'air libre.

a-6- Calculs et interprétation

La position finale de la tâche (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, le R_f , qui a été fort habilement traduit comme Rapport frontal.

Ce R_f est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant. Ainsi un R_f faible est caractéristique d'une molécule qui a peu migré et qui est donc proche de la ligne de dépôt. Alors qu'un R_f élevé est caractéristique d'une molécule qui a fortement migré et qui est donc proche du front de migration, avec une forte affinité pour la phase mobile. Le R_f est compris entre 0 et 1.

La valeur du R_f varie avec la nature de l'éluant utilisé (organique ou aqueux), le type du support chromatographique (gel de silice, polyamide, cellulose), la nature du produit lui-même (aglycone ou glycosyl), ainsi que de la disposition des différents substituants sur le squelette flavonique (Marbry *et al.*, 1970 ; Berthillier, 1972 ; Malcom, 2004).

$$\text{Rapport frontal (Rf)} = h / H$$

- ✚ H : hauteur parcourue par le solvant entre la ligne de dépôt et le front du solvant (en cm),
- ✚ h : hauteur parcourue par la substance entre la ligne de dépôt et sa position au moment de la révélation (en cm).

a-7- Structure R_f

La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité :

- ✚ les polyhydroxyflavones ont des faibles valeurs de R_f (0,00-0,25),
- ✚ les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de R_f comprises entre (0,3-0,5),
- ✚ les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées de R_f (0,5-0,75) (Bandyukova et Shinkarenko, 1973) (tableau 2).

Structure flavonoïque	Rf
Augmentation des OH	Diminution du Rf
Méthylation des groupements OH	Augmentation des valeurs de Rf
Acétylation	Augmentation des valeurs de Rf
Glycosylation	Diminution des valeurs de Rf due principalement de l'introduction de nouveau groupement OH

Tableau 2: La relation entre le Rf et la structure des flavonoïdes (Bandyukova et Shinkarenko, 1973)

a-8- Structure-fluorescence

L'examen en lumière ultraviolette est la méthode la plus utilisée pour la détermination de la structure des flavonoïdes. Les tableaux 3 et 4 résument la relation qui peut exister entre la structure d'un composé et sa fluorescence sous UV.

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Brun noir	3-OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5-OH et 4' OH Flavones 3-OR et 5 OH ,4'-OH Flavones 6 ou 8 OH Chalcones Dihydroflavonols Isoflavones Flavanones
Noir	Flavonols 5, 6, 7, tri OH libres Flavonols 5, 7, 8, tri OH libres
Bleu clair (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5-OH libre avec 3 OH substitué
Jaune terne Jaune Fluorescence orangée	Flavonols 3- OH libre avec ou sans 5-OH libre
Jaune vert brillant	5 OH libre ou 5 OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3OH libres Aurones Chalcone Flavanones
Jaune pâle	dihydroflavonols

Tableau 3: La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (Lahouel, 2005)

Couleurs sous UV	Composés probables
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 diglucoside
Orange	Anthocyanidine 3 glucoside
Orange pâle	Anthocyanidine 3 glucoside
Jaune	Flavonols
Jaune pâle	Flavonols
Vert	Rutine
Bleu sombre	Flavonols, flavanones, aures
Bleu vif	Hydroquinones
Bleu pâle	Acide phénol
Bleu blanc fluorescent	Acide phénol
Violet	Flavonols, flavanones, isoflavones, flavones
Pourpre sombre	Chalcones
Marron	Flavones, flavonols 3- glycosylés

Tableau 4: Composés phénoliques identifiés par CCM (Markham, 1982)

CHAPITRE II

Résultats et discussion

1- RÉSULTATS

1-1- CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Pour identifier les familles moléculaires présentes dans notre extrait, nous avons effectué un criblage phytochimique par CCM. C'est une technique appréciée en phytochimie, car elle fournit une empreinte chromatographique de l'extrait étudié, et un grand nombre d'extraits peuvent être analysés simultanément. De ce fait, nous avons opté pour cette technique, dans le but de caractériser la présence ou non des molécules bioactives de l'extrait méthanolique des feuilles de *S. marianum* L.

Dans notre cas, nous avons utilisé un système phase stationnaire polaire de gel de silice combiné à différentes phases mobiles pour identifier principalement les composés polaires : sucres, acides et polyphénols.

Les plaques CCM observées après élution par les différents solvants dans une chambre noire montrent de nombreuses tâches ayant des couleurs et des migrations différentes. L'identification des composés ou familles les plus probables qui peuvent entrer dans la composition de notre extrait obtenu, ont été caractérisés en s'appuyant des données de la littérature.

1-2- IDENTIFICATION PAR RAPPORT A LA LITTÉRATURE

1-2-1- Le système acétate d'éthyle / méthanol / eau

Les résultats obtenus avec le système de solvant acétate d'éthyle / méthanol / eau (50 / 20 / 10 ; V / V / V) de l'extrait méthanol sont mentionnés sur le tableau 5.

Extraits	Rf	Couleurs
Extrait méthanolique	1	Violet clair

Tableau 5: Résultats de la CCM dans le système acétate d'éthyle / méthanol / eau

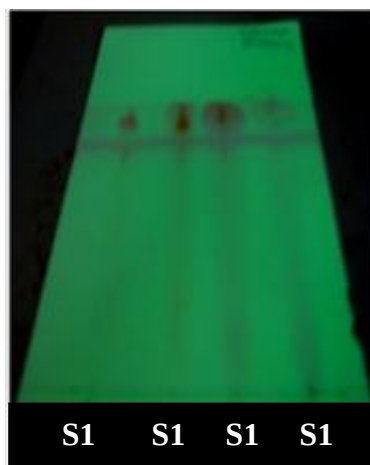


Figure 17: Chromatogramme du système acétate d'éthyle / méthanol / eau

Les résultats regroupés dans le tableau 5 et représentés par la figure 17 révèlent que la phase mobile constituée d'un mélange de trois solvants organiques moyennement polaires et fortement polaires, a donné une trainée trop importante de spots qui ont fortement élués. Nous constatons que la phase méthanolique indique la présence des spots avec un rapport frontal important ($R_f = 1$) de couleur marron et violet et qui correspondent aux flavones, des flavonols 3- glycosylé isoflavones (Markham, 1984).

1-2-2- Le système butanol / acide acétique / eau

Les résultats relatifs aux rapports frontaux pour le système butanol / acide acétique / eau (40 / 50 / 10 ; V / V / V) de l'extrait méthanol sont illustrés sur le tableau 6 et représentés par la figure 18.

Extraits	Rf	Couleurs
Extrait méthanolique	0.92	Rose
	0.92	Pourpre sombre
	0.66	Marron
	0.56	Marron

Tableau 6: Résultats de la CCM avec le système butanol / acide acétique / eau



Figure 18 : Chromatogramme de l'éluant butanol / acide acétique / eau

Le système butanol / acide acétique / eau (40 / 50 / 10 ; V / V / V) est une phase mobile de nature polaire qui a également donné une bonne séparation chromatographique avec une visibilité nette des spots, de formes arrondies et allongées, présentant des couleurs rose, pourpre sombre et marron. Ce sont probablement des anthocyanidines 3 glucoside, des chalcones, des flavones et flavonols 3- glycosylés (Markham, 1982) avec des rapports frontaux respectifs de l'ordre de (0.92 ; 0.92 ; 0.56 et 0.66).

1-2-3- Le système chloroforme / acétone / acide formique

Les résultats relatifs aux couleurs des spots de l'extrait méthanol par le système chloroforme / acétone / acide formique (75 / 16.5 / 8.5; V / V / V) sont illustrés sur le tableau 7 et représentés par la figure 19.

Extraits	Rf	Couleurs
Extrait méthanol	0.10	Violet
	0.50	Violet
	0.09	Rouge
	0.22	Rose
	0.60	Marron

Tableau 7: Résultats de la CCM avec le système chloroforme / acétone / acide formique

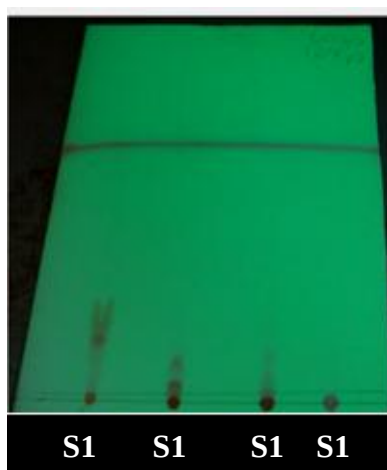


Figure 19 : Chromatogramme du système chloroforme / acétone / acide formique

Le système chloroforme / acétone / acide formique (75 / 16.5 / 8.5; V / V / V) permet de séparer les flavonoïdes polaires. Les composés sont restés adsorbés à la phase fixe qui est de nature polaire. Par le biais de ce système, nous avons pu mettre en évidence quatre composés dans l'extrait méthanolique qui présente des spots avec des rapports frontaux ; R_f de 0.10 à 0.50, ayant sous lumière ultra violette ($\lambda=254$ nm), une couleur rouge violet ce sont selon (Markham, 1982 et Lahouel, 2005) des chalcones, dihydroflavonols, isoflavones, flavanones et flavones. Deux spots de couleur rouge et rose avec des R_f plus faibles (0.09 et 0.22) qui sont des anthocyanidines 3 glucoside et anthocyanidines 3.5 diglucosides (Markham, 1982 et Lahouel, 2005), un spot de couleur marron avec un rapport frontal, R_f de 0.60 correspondent très probablement à la présence des flavonols 3- glycosylés, flavones, chalcones et dihydroflavones (Markham, 1982).

1-2-4- Le système chloroforme / méthanol / eau

Sur le tableau 8 et la figure 20 sont représentés les résultats de l'extrait méthanol avec le système de solvant chloroforme / méthanol / eau (90 / 10 / 20 ; V / V / V).

Extraits	Rf	Couleurs
Extrait méthanolique	Trainée	Bleu pâle
	Trainée	Pourpre sombre
	Trainée	Rose
	Trainée	Rouge
	Trainée	jaune
	Trainée	Rose
	Trainée	Violet
	0.60	Noir
	Trainée	Jaune fluorescent
	Trainée	Jaune pâle
	0.95	Noir
	1	Noir

Tableau 8: Résultats de la CCM avec le système chloroforme / acétone / acide formique

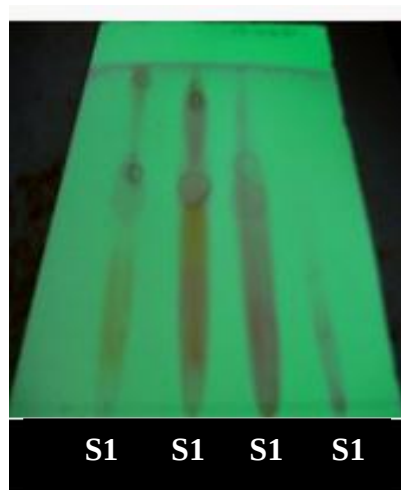


Figure 20 : Chromatogramme du système de solvant chloroforme / acétone / acide formique

Ce système de migration est constitué d'un mélange de solvants polaires, qui a permis d'avoir une bonne séparation chromatographique avec des trainées de spots visibles. Nous remarquons que la phase méthanolique est riche en molécules. Sous une lumière ultra violette à une longueur d'onde de 254 nm, l'extrait présente des trainées de couleur rouge, rose, jaune

foncé, jaune clair et bleu pâle avec des spots noir ayant des rapports frontaux (Rf) respectifs de (1 ; 0.60 et 0.95). L'ensemble des spots et trainées indiquent la présence des anthocyanes, des flavones, des flavonols 5, 6, 7 tri OH libre, flavonols 5, 7, 8 tri OH libre, flavonols 3 OH libre, flavanones, isoflavones, des flavonolignanes et des acides phénols (Markham, 1982).

2- DISCUSSION

2-1- ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

L'étude phytochimique de quelques principes actifs supposés être présents dans l'extrait méthanolique des feuilles de *S. marianum* L., nous a permis de constater que l'extrait obtenu est riche en flavonoïdes. Ceci témoigne de l'efficacité de la méthode adoptée pour l'extraction de ce type de composés, utilisant des solvants polaires permettant d'épuiser la matière végétale et de séparer les composés de l'extrait brut.

Pour l'analyse qualitative du contenu phénolique de notre extrait obtenu, nous avons eu recours à l'utilisation de la CCM qui est l'une des méthodes de séparation des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

Cette technique a permis une approche préliminaire de la composition de l'extrait méthanolique en faisant correspondre à chaque spot coloré une classe de flavonoïdes en se référant aux données de la littérature.

Elle a contribué à mettre en évidence les différentes familles de flavonoïdes existantes, en fonction de leur façon de migrer dans les conditions expérimentales, ce qui a révélé la composition de notre extrait en flavones, flavanones, flavonols, flavanonols isoflavones, flavonolignanes, anthocyanes, anthocyanidine 3- glucoside et acide phénols.

Selon Guernet et Hamon (1981), il peut coexister des caractères polaires et apolaires chez les molécules organiques, ce qui entraîne une affinité pour des solvants très divers.

Par ailleurs, la structure des flavonoïdes est généralement complexe, formée de plusieurs cycles (Heller, 1998); ils ne sont pas solubles dans un solvant spécifique mais plutôt dans divers solvants de polarités différentes.

Nous remarquons aussi que les composés chimiques présents chez *S. marianum* L. sont de nature polaire, ils se présentent sous forme de glycosides. La bonne séparation apparaît dans les systèmes polaires, ce qui prouve que les flavonoïdes existants sont de nature polaires.

3- CONCLUSION

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que la technique de l'analyse qualitative de la chromatographie sur couche mince a révélé dans l'extrait testé, grâce aux systèmes d'élutions choisis, la présence des flavones, flavanones, flavonols, des flavonols 5,6,7 tri OH libres, des flavonols 5,7,8 tri OH libres, des flavonols 3OH libres, des flavanonols, isoflavones, flavonolignanes, anthocyanes, anthocyanidine 3- glucoside et acide phénols qui ont une activité thérapeutique connue d'après la littérature.

Il serait également intéressant d'identifier le reste des composés flavonoïques en utilisant d'autres techniques d'analyses qualitatives tel que la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Référence bibliographie

A

- **Allain H, Schuck S, 1999**May-Jun : Aminotransferase levels and silymarin in the novo tacrine-treated patients with Alzheimer's disease. Dement Geriatr Cogn Disord ; 10(3) :181-5.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 2 auteurs)
- **Alais C et Linden G., 1997** : Abrégé de biochimie alimentaire. 4ème Edition Masson ; Paris, (119-123).
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 2 auteurs)
- **Amrani O.**, Valeur nutritive du chardon marie (*Silybum marianum*(1) Gaerthn) "Tawra". **(2006)** Magister de la faculté des sciences de L'Algérie Batna.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 1 auteur)
- **Anonyme, 1984** : Document technique n°1 station nationale d'essais de semences. Liste alphabétique des principales espèces de plantes cultivées et des mauvaises herbes. Noms Latins et noms communs français. 2ème ED ? ED Geus.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Aubert G.** La classification des sols. Document de travail n°2. fac. Saint-Jérôme., Marseille, **1989**, 6p.
(Références bibliographique pour un journal Caractérisation des sols occupés par les espèces du genre *Ruta* dans le Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien) pour Bouzidi Mohamed Ali*, Faraoun Fatiha*, Meliani Hbib**, Boubekour Ismail*, Kralifa Mohamed* et Zattal Zineb*)
- **Anonyme. (1998)**. Rational phyto therapy). A physicians guide to herbal medecine. 3ème édition. Springer-Verlage. Germany. 218.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Anonyme, 1995** : Comitty for veterenary medicinal product *Silybum marianum*.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 1 auteur)

- **Anderson P.L., Brundage R.C., kakuda T N. and Fletcher C.V., 2002-** Response is correlated with peak plasma concentrations of indinavir in adults with undetectable human immunodeficiency virus ribonucleic acid. *Clinical pharmacokinetics*, 71: 280-85. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Audigié C.L., Dupont G., Tonszain F. (1995).** (Chromatographie) principes d es méthodes d'analyses biochimiques. Tome 1 Doin. 44-85.
(Référence bibliographique pour un journal 3 auteurs)
- **Araqas H., 2013-** Extraction des composés phénoliques des feuilles d'oliviers et étude de leurs activités biologiques. Mémoire de fin d'étude, faculté des sciences Dhar El Mehraz, USMBA Fés, 58 p.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)

B

- **Barnes joan,** Anderson A. Linda, Phillipson David J. *Herbal Medicines*, Pharmaceutical Press, Grande-Bretagne, 2007 troisième édition.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Bayer E et Buller K,P,1990 :** Guide de la flore méditerranéenne : caractéristique, habitats, distributions et particularités de 536 espèces. Ed. Delachaux et Niesthle Paris, p222. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Agrotechnie Université Batna à 2 auteurs)
- **Bandyukova V. A. et Shinkareako A. L., 1973-** The thin layer chromatography of flavonoids. *Chemistry of natural compounds*, 9 (1): 17-21.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Baraka D., 2008-** Inventaire et caractérisation des plantes médicinales de Djebel Tessala (Wilaya de Sidi Bel Abbés). Mémoire de Magister, Université de Sidi Bel Abbés, 137 p. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Bessam F/Z., Mehdadi Z., Mahjoub H. et Maarouf A., 2010-** Effet de quelques prétraitements physiques sur l'amélioration des performances germinatives de *Stipa tenacissima* L. et caractérisation des substances inhibitrices, *Acta Bot. Gallica*, 157 (2), pp 349-360. « Société botanique de France, Université Lille 2 »
(Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Bessam F/Z., Mehdadi Z., 2014-** Evaluation of the Antibacterial and Antifongigal Activity of different extracts of Flavonoïques *Silybum Marianum* L. *Advances in*

Environmental Biology, 8(17) September 2014, Pages: 1-9, ISSN-1995-0756 EISSN-1998-1066, AENSI Journals, Journal home page: <http://www.aensiweb.com/AEB/>

- **Bessam F Z., Mehdadi Z. et Lizard G., 2017-** Study of the antioxidant activity of the extracts of the achenes of *Sylibum marianum* L. Journal of Biochemistry International, 3(2): 63-72, 2016, ISSN: 2454-4760, International Knowledge Press, www.ikpress.org. (Référence bibliographique pour un journal 3 auteur)
- **Berthillier A., 1972-** La chromatographie et ses applications. Ed. Dunod. Paris, 77 p. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Bouterfes K., Mehdadi Z., Latrach Ali et Cherifi K., 2013-** Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord occidentale). *In ecologia mediterranea*, 39 (2). (Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A and Aouad L., 2014-** Pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 12 (1): 6-14. (Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Baize D.** Guide des analyses courantes en pédologie. INRA, Paris, **1988**, 172p (Références bibliographique pour un journal Caractérisation des sols occupés par les espèces du genre Ruta dans le Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien) pour Bouzidi Mohamed Ali*, Faraoun Fatiha*, Meliani Hbib**, Boubekour Ismail*, Kralifa Mohamed* et Zattal Zineb*) à 1 auteur
- **Bel khada, 1997** : La pharmacopée marocaine traditionnelle Ed, ISBN. IBIS Press, p202. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Beloued A, 1998** : Plantes médicinales d'Algérie, Ed office des publications universitaires INA EL HARACHE ? p68. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Beniston NT, Beniston WS, 1984** : Fleures d'Algérie. Ed Entreprise Nationale de livre, Alger p274. N°ed. 1822/84. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 2 auteurs)

- **Bhatia N et Agarwal R, 2001 Feb** : Detrimental effect of cancer preventive phytochemicals silymarin, Prostate. 64(2) : p98-107.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 2 auteurs)
- **Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. (2007)**. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. The Cochrane Hepato-Biliary Group, Copenhagen Trial Unit, Center for Clinical Intervention Research, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 5 auteurs)
- **Boynton.A.L, Kleine.L.P, Durkin.J.P, Whitfield.J.F, Jones.A**. Mediation by calcimodulin and cyclic AMP of tumor promoter-induced DNA synthesis in calciumdeprived rat liver cells. Biol. Sci. Div., **1982** 417-31.
(Référence bibliographique pour un journal 5 auteurs)
- **Bouzidi MA., Latrèche A., Attaoui I., Mehdadi Z., Benyahia M**. Caractérisation des matorrals et des garrigues à Urginea pancration (Steinh) Phil. Dans le djebel Tessala (Algérie occidentale). Physio-Géo **2009** ; 3 : 131-149.
(Référence bibliographique pour un journal 51 auteurs)
- **Bu-abbas.A, Clifford.M.N, Ioannides.C, Walker.R**. Stimulation of rat hepatic UDPglucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. Food chem. Toxicol. **1995** 33(1): 27-30.
(Référence bibliographique de Mémoire Toxicologie et Santé Université Costantine à 4 auteurs)
- **Bruneton J, 1987** : Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Techniques et documentation Lavoisier ; (156-183).
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Bruneton J**. Pharmacognosie, phytochimie plante médicinale. 4eme édition Tec & Doc Lavoisier Ed Paris **2009** : p 261, 263, 308, 459.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)

- **Bruneton J. (1933).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, techniques et documentation. Lavoisier. Paris.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Bruneton J.** Les tanins. Ed. Editions médicales internationales, Paris, **1999**, 369-404.
(Référence bibliographique de These de Doctorat en Génie Biologie Université de Carthage à 1 auteur) (Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 1 auteur)
- **Bruneton J.** Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales. 3 ème édition. Tec & Doc Lavoisier Ed Paris **1999** : 1120p.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 1 auteur)

C

- **Caremes C, 1990 :** les adventices des cultures méditerranéennes en Tunisie, leurs plantules, leurs semences. Publication agricole n°27, p102-103.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Agrotechnie Université Batna à 1 auteur)
- **Carducci R, 1996 May :** Silibinin and acute poisoning with Amanita phalloides, Minerva Anestesiol ; 62(5) : 187-93.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Carmak R, Wolfram S, 2006** «The potential of flavonoids to influence drug metabolism and pharmacokinetics by local gastrointestinal mechanisms», dans Curr.Drug Metab.,vol. 7,n°7, p.729-44.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 2 auteurs)
- **Chen H.Q., Jin Z.Y., Wang X.J., Xu X.M., Deng L. et Zhao J.W., 2008-** Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation. *Neuroscience Letters*, 448 (2) :175-9. (Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)

- **Cherifi K., Mehdadiz Z., Latrech A. & Bachir Bouiadjra S.E., 2011** -Impact de l'action anthropozoogène sur l'écosystème forestier du mont de Tessala (Algerie occidentale). In *Sécheresse*, 22 : 197–206.
(Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Chenouf N., 2005**- La diversité biologique en Algérie: Etat Stratégie. Atelier National sur l'intégration de l'environnement dans les politiques sectorielles. Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. El Aurassi, les 21 et 22 novembre 2005. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Couteau D, Mc Cartney G,R, Williamson, Gibso, G, Faulds B, Karkanis et al, (2001).** Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyze chlorogenic, 1,90,873-881. (Référence bibliographique pour un journal 6 auteurs)
- **Crocenzi F.A, 2006 et al.** Silymarin as a new hepatoprotective agent in experimentalcholestatifs : new possibilities for an ancient medication. *Current Medicinal Chemistry* ; 2006 ; 13(9) : 1055-74.
(Référence bibliographique pour un journal pour 2 auteurs)

D

- **Dabbour I. R, 2014** : Al-Ismail K.M., Takruri H.R. and Azzeh F.S., Chemical Characteristics of Cold Pressed Seed Oil of Wild Milk Thistle Plant Grown in Jordan, *Pakistan Journal of Nutrition* 13 (2) : 67-78, 2014.
(Référence bibliographique pour un journal pour 1 auteur)
- **Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics** : Extraction, Analysis and Their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 21 oct **2010** ; 15(10) :7313-52.
(Référence bibliographique pour un journal 2 auteurs)
- **Da silva.E.J.A et al ...** , Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and dauricoumarone, in rats and mice. *J. Pharm.Pharmacol.* **1994**.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Deysson G, 1979** : Organisation et classification des plantes vasculaires 2ème partie. *Systématique, cours de botanique générale*, 4ème série ED CUDSEDES 540p.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)

- **Dicko MH, Gruppen H, Traore AS, Voragen AGJ.** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnol Mol Biol Rev.* **2006** ;1(1) :20-37.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)
- **Di carlo.G, Mascolo.N, Izzo.A.A, Capasso.F.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Review. *Life Sci.* **1999** 65: 337-53.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)
- **Dodd J, 1989 :** Phenology and seed production of verbegatee thistle. *Silybum marianum(L) Gaertn.*, in Australia in relation to mechanical and biological control. *Weed Research* 29, p255-263.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Agrotechnie Université Batna à 1 auteur)
- **Dustan JA ; Mori TA ; Barden A et al (2003).** Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy : a randomized, controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* ; 112 : 1178-1184.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 3 auteurs)

E

- **Évrard CM. ,William GH.** Physiologie végétale, Bruxelles : De Boeck **2003** : 139 p.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 2 auteurs)
- **Edith A., Robert M., Jean. U. (1988).** Chromatographie: Théorie. 26 et 28 Janvier. Lycée Louis Vincent – METZ.
(Référence bibliographique pour un journal 3 auteurs)

F

- **Fallah Huseini H. et al.** The efficacy of silybum marianum (L). Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes : a randomized, double-blind, placebo-controlled,

clinical trial. *Phytotherapy Research* ; 2006 ; 20 :1036-1039. (Référence bibliographique pour en journal pour 2 auteurs)

- **Fehér j et al.** Livre-protective action of silymarin therapy in chronic alcoholic liver disease. *Orv. Hetil.* ; 1989 ; 130(51) : 2723-7.
(Référence bibliographique pour en journal pour 2 auteurs)
- **Fesen.M.R, Pommier.Y, Leteurtre.F, Hiroguchi.S, Yung.J, Kohn.K.W.** Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem.Pharmacol.* **1994** 48(3): 595-608.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 6 auteurs)
- **Ferka-zazou N., 2006-** Impact de l'occupation spatio-temporelle des espaces sur la conservation de l'écosystème forestier : cas de la commune de Tessala, wilaya de Sidi Bel Abbès, Algérie. Mémoire de Magister, univ. Tlemcen, 154 p.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
Foster S, 1995 : "Milk Thistle." Herbal seeds and medicinal needs. Better nutrition for today's living p64-710. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Fuhrman.B, Lavy.A, Aviram.M.** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin.Nutr.* **1995** 61(3): 549-54.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 3 auteurs)

G

- **Guittonneau et Huon A, 1983 :** Connaitre et reconnaître la flore et la végétation méditerranéenne. Ed. ouest France, p331.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 2 auteurs)
- **Gurley B. et al.** Assessing the clinical significace of botanical supplementation on human cytochrom P450 3A activity : com-parison of a milk thistle ant black cohosh product to rifampicin and clarithromycin. *J.Clin.Pharmacol.* ; 2006 ; 46(2) : 201-213.
(Référence bibliographique pour en journal pour 2 auteurs)
- **Guernet et Hamon., 1981-** Abrégé de chimie analytique. Tome I. 2eme Ed. Masson. Paris, 8-12 p. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)

- **Gabay R, Plitmann U et Danin A, 1994** : Facteurs affectant le dominante du *Silybum L* de *Silybum* dans ses habitats spécifiques Flore 189. p201-206.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 3 auteurs)
- **Guignard J, L, 1998** : Botanique. 11^{ème} Ed. Ed Masson, 278p.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Giddings, J.C., 2002**. Dynamics of Chromatography: Principles and Theory. CRC Press. Giusti, M.M., Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Curr. Protoc. Food Anal. Chem.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Gupta OP, Sing S, Bani S, 2000** : Anti-inflammatory and anti-arthritic activities of silymarin action through inhibition of 5-lipoxygenase phytomedicine ; 7(1) : 21-4.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 3 auteurs)

H

- **Hauf M, 1982** : les adventices d'Europe, leurs plantules, leurs semences, ed BASF. 90p. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Halbach G et Gorler K, 1971** : Separation of flavone in *Silybum marianum* fruits, planta med ; 19 :293-298.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 2 auteurs)
- **Hartek K, DAB9** : kommentar Wissenshaftlick Verlags-gesellschaft mbH, Stuttgart, 1987, p2226-2227.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Halliwell.B, Cross.C**. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. Environ. Health Persp. **1994** 102 (Suppl. 10): 5-12.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 2 auteurs)

- **Harborne.J.B.** (Eds), phytochemical dictionary of the leguminosae, vol.1, Chapman and Hall, London **1994**, pp.XX-XXII.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 1 auteur)
- **Halliwell.B, Cross.C.** Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. Environ. Health Persp. **1994** 102 (Suppl. 10): 5-12.
(Référence bibliographique pour un journal 2 auteurs)
- **Heller R., Esmault R., Lance C. (1998).** Physiologie Végétale. 6eme édition. Dunod, Paris. p:290.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 3 auteurs)

I

- **Ikan R :** Natural products. A laboratory guide. Academic Press ; London, New York and San Fransisco ; **1969** (17,19).
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 1 auteur)
- **Izzo.A.A.** PAF and the digestive tract. A review. J. Pharm Pharmacol. **1996** 48: 1103-11. (Référence bibliographique de Mémoire Magister Chimie Organique Université Costantine à 1 auteur)

J

- **Jancova P 2007, et al.** Silybin is metabolized by cytochrome p450 2C8 in vitro. Drug Metabolism and Disposition ; 2007 ; 35(11) : 2035-2039.
(Référence bibliographique pour un journal pour 2 auteurs)
- **Jakupovic J, Paredes L, Bohlmann F, Watson L.** Prenyl flavanones from Marshallia species. Phytochem. 1988, 27 (10): 3273-5.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 4 auteurs)
- **Jiang C, Angarwal R, Lu J.,2000 :** Anti-angiogenic potential of cancer chemopreventive flavonoid antioxidant, silymarin, biochem biophys Res commun sep16 ; 276(1) : 371-8. (Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 2 auteurs)

K

- **Karkanis A., Dimitrios B., Efthimiadou A.** Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. (2011) *Industrial Crops and Products*, Volume 34, Issue 1, 825–830.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 3 auteurs)
- **Kikken R.** Géologie et stratigraphie des monts de Tessala. FOUQUET Ed **1962** : 220 p. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Kechkar M., 2007-** Extraction de la Sylibmarine du *Sylibum marianum* et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire de Magister. Biotechnologie microbienne. Université de Constantine, Algérie, 49 p.

L

- **Laughton.M.J, Halliwell.B, Evans.P.J, Hoult.J, Robin.S.** Antioxydant and Pro-oxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol.* **1989** 38(17): 2859-2865.
(Référence bibliographique pour un journal 5 auteurs)
- **Lasker.J.M, Huang.M.T, Conney.A.H.** In vitro and in vivo activation of oxidative drug metabolism by flavonoids. *J.pharmacol. exp. ther.* **1984** 229(1): 162-70.
(Référence bibliographique pour un journal 3 auteurs)
- **Lahouel M., 2005-** Interaction flavonoides-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat. Univ. Mentouri de Constantine, Algérie, 92 p.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Latifou L., 2005-** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes beninoises. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur de Strasbourg, France, 150 p.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Leenheer D, 2014 :** Copyright © 2014 Beauty Sanctuary Cosmetics. Bienfaits of Milk-thistle,. Huile végétale provoquant.
(Référence bibliographique pour un journal pour 1 auteur)

- **Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V., Biról. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta. Biol. Szeged., 47, 119-125.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)
- **Lupper S, 1998 :** A review of plants used in the treatment of liver disease : Part 1. Alteranative Medecine Reviw volume ; 1998 ; 3(6) :p410-21.
(Référence bibliographique de mémoire Master Toxicologie et Santé Université Costantine à 1 auteur)

M

- **Macheix JJ.** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? Acta Botanica Gallica **1996** ; 143 (6) : 473-479.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Mahmood.N, Pizza.C, Aquino.R, De tommasi.N, Placente.S, Colman.S, Burke.A, Hay.A.J.** Inhibition of HIV infection by flavanoids. Antivir. Res. **1993** 46(7): 1257-71. (Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 7 auteurs)
- **Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.). (Journal of Nature and Technologie **2013** ; p 36-40. Pour 3 auteurs)
- **Marfak A.** Radiolyse gamma des flavonoïdes : Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges **2003** : p 24-42.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 1 auteur)
- **Manthey., Fleuriet.A., Macheix.J.J., Sarni.M. (2005).** Les composés phénoliques dans la plante: Structure, Biosynthèse, Répartition et roles.In: les polyphénols en agroalimentaires. Eds, Tech & Doc, Lavoisier, Paris. 32, 150, 153-155, 160-161.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)
- **Martinez V, 1997 :** El mundo de las plantas ; www.botanical-online.com
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)

- **Manna SK et al.** Silymarin suppresses TNF induced activation of NK-Kappa B, c-jun N-terminalkinase, and apoptosis. *L immune* 1999 ; 163 : 6800-9.
(Référence bibliographique pour un journal pour 2 auteurs)
- **Marfek A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Malcolm H.D., John W.V.K., Bruce M.S., Nigel B.P., Rosemary E.A., Peter J. and Weavers R.T., 2004-** *Phytochemistry*, 65 : 1255-1264.
(Référence bibliographique pour un journal 8 auteurs)
- **Mabry T. J., Markham K. R. and Thomas M., 1970-** The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag New york , Heidelberg, p. 254.
(Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Marchal R., 1998-** La chromatographie théorie. Edition. Antont, France, 48p.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Marfak A., 2003-** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoge, pp. 24-42. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Messegué, 1975 :** Mon herbier de santé, les plantes qui guérissent. Ed Robert Laffont, Paris, 334p. (Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)
- **Meyer et Buchtela, 1999 :** Tee-Rezepturen-Ein. *Hundbuch for Apotheker und frzte.* Stuyygart : Deutscher Apotheker Verlag.
(Référence bibliographique pour un journal 2 auteurs)
- **Meschy F., Guenguen L.** Ingestion et absorption des éléments minéraux majeurs:nutrition des ruminants domestiques ; ingestion et digestion. (1995). Ed. INRA, 721-758.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Universite De LORRAINE à 2 auteurs)
- **Morazzoni P et Bombardelli E, 1995 :** *Silybum marianum.* *Fitoterapia*, 66(1) : p3-49. (Référence bibliographique de mémoire Master Toxicologie et Santé Université Costantine à 2 auteurs)

- **Morreel K, Goeminne G, Storme V, Sterck L, Ralph J, Coppieters W, Breyne P, Steenackers M, Georges M, Messens E, Boerjan W.** Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *Plant J.* **2006**, 47: 224-37.
(Référence bibliographique pour un journal 8 auteurs)
- **Mouillé R. THM, 2014 :** Utilisation du Chardon-Marie (*Silybum marianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet : présentation de quelques cas cliniques. Thèse de doctorat ; p72.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 1 auteur)
- **Mookerjee.B.K et al.,** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses . **1986)**
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Mokaddem M., 2012-** Comparaison entre les formations végétales à *Quercus ilex* L. et *Pinus halepensis* Mill. et valorisation de l'espèce *Rubus ulmifolius* Schott. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès, 165 p. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Muthu C., Ayyanar M., Raja N. and Ignacimuthu S., 2006-** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2-43 p.
(Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)
- **Mucsi.I, Pragai.B.M.** Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia* **1985** 41(7):930-1.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 2 auteurs)

N

- **Nutra news. (2003).** Information et actualité santé, nutrition, prévention du vieillissement – htm. (Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Nijhoff.W.A, Bosboom.M.A, Smidt.M.H, Peters.W.H.** Enhancement of rat hepatic and gastrointestinal glutathione and glutathione S-transferases by alpha-angelicalactone and flavone. *The Netherlands Carcinogenesis* **1995** 16(3): 607-12
(Référence bibliographique pour un journal 4 auteurs)

O

- **Ody P., 2002-** les plantes médicinales : Encyclopédie pratique. 2ème Ed. Ed Sélection du Readers Digest p 120.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Ono E, Hatayama M, Isono Y, Sato T, Watanabe R, Yonekura-Sakakibara K, FukuchiMizutani M, Tanaka Y, Kusumi T, Nishino T, Nakayama T.** Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles. *Plant J.* **2006**, 45: 133-43.
(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 9 auteurs)
- **Obermeier.M.T, White.R.E, Yang.C.S.** Effects of bioflavonoids on hepatic P450 activities. *Pharm. Res.* **1995** 25(6): 575-84.
(Référence bibliographique pour un journal 3 auteurs)
- **Ono.K, Nakane.H, Fukushima.M, Chermann.J.C, Barre-sinoussi.F.** Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* **1990** 190(3): 469-76.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 5 auteurs)
- **Ono.K, Nakane.H.** Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* **1990** 108(4): 609-13.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 2 auteurs)
- **Ohemeng.K.A, Schwender.C.F, Fu.K.P, Barrett.J.F.** DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993** 3(2): 225-30.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)

P

- **Peris JB 1996 :** Guide des plantes Médicinales de la communauté de valence. valence : Les Provinces, p127.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)

- **Pepping J, 1999** : Milk thistle : Am. J Health-system. Pharm, 56 :p1195-1197.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Pobeda M, 2014** : les bienfaits des huiles végétales : Apprendre à les connaître et à les utiliser pour votre santé et votre beauté. Poessnecj, Allemagne : Marabout.
(Référence bibliographique pour un journal pour 1 auteur)
- **Pierre AD, 2010** : La silymarine dans l'intoxication aux amatoxines. 26 (2) : 2-7.
(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 1 auteur)
- **Pradhan S.C., Girish C.** Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine J.Med.Res. ;2006 ; 124 :: 491-504.
(Référence bibliographique pour un journal pour 2 auteurs)

Q

- **Quenzel P et Santa S, 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale Tome2 Ed CNRS p1011.
(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)

R

- **Rainine F , 2005. Milk thistle.** Complementary and Alternative Medicine ; 2005 ; 27(7) : 1285-1288. (Référence bibliographique pour un journal pour 2 auteurs)
- **Rakipov N., 1987** : biochimie des cultures tropicales. Traduction français : Ed Mir Moscou (95,98-99,154-159,319-321).
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Regnault-Roger C.** Bio-pesticides d'origine végétale. Tec & Doc Lavoisier Ed **2008** : 259p. (Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **René L. (2002).** Méthodes physiques de séparation et d'analyse et méthodes de dosage des biomolécules. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/dosages/D3.html>
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Ritcher G, 1993** : Métabolisme des végétaux physiologie et biochimie. Press Polytechnique et Universitaire Romandes ; (317-339).

(Référence bibliographique de These de Doctorat en Génie Biologie Université de Carthage à 1 auteur)

- **Roche C, 1991** : Milk thistle Pacific Northwest extension publication Washington State University, Oregon State University p382.

(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)

- **Romani A., Pinelli P., Cantini C., Cimato A., Heimler D.** Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). Food Chemistry Journal 2006 ; 95 : 221-225.

(Référence bibliographique pour un journal 5 auteurs)

S

- **Saller R, 1995** : Phytothérapie, Hang Heidelberg, p267- 274.

(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 1 auteur)

- **Seeram NP, Henning SM, Zhang Y, Suchard M, Li Z, Heber D.** Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. J. Nutr. **2006**, 136 (10): 2481-5.

(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 5 auteurs)

- **Sindel, BM ,1991** : a review of the ecology and control of thistles in australis. Weed research vol31, p189-201.

(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée Université Costantine à 5 auteurs)

- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras AR., Simonc M., Knez Z.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food chem **2005**; 89: 191-198.

(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 6 auteurs)

- **Spedding.G, Ratty.A, Middleton.E.J.** Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. Antivir. Res. **1989** 12(2): 99-110.

(Référence bibliographique pour un journal 3 auteurs)

- **Spichiger r., savolainen v., figeat m. (2000).** La botanique du système des plantes à fleurs. Ed. : presses polytechniques et universitaires romandes.

(Référence bibliographique de mémoire Magister en Microbiologie Appliquée
Université Costantine à 3 auteurs)

- **Subirade I; Fernandez y; Periquet A; Mitjavila S.** Catechin protection of 3T3 Swiss fibroblasts in culture under oxidative stress. Biol. trace elem. Res. 47(1-3): 313-9, 1995.

(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 4 auteurs)

- **Steven JF Miranda C L and Buhler DR Deinzer ML., 1998 :** chemistry and biology of hop flavonoids, 1204p.

(Référence bibliographique de mémoire Master Toxicologie et Santé Université Costantine à 4 auteurs)

- **Svobodova A., Walterova D., Psotova J.** Influence of silymarin and its flavonolignans on H₂O₂-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts, (2006) Burns 32, 973–97

(Référence bibliographique de THESE EN COTUTELLE Université De LORRAINE à 3 auteurs)

- **Szila S, Szentgui D, Demeter J, 1988 :** Protective effect of legalon in workers exposed to organic solvents : Acta Med Hung ; 45(2), 249-56.

(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 3 auteurs)

V

- **Venkataraman R, 2000 :** Milk thistles, an herbal supplement, decrease the activity of CY3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferase in human hepatocyte culture. Drug metabolism and disposition ; 28(11) : 1270-1273.

(Référence bibliographique de mémoire Magister Microbiologie Appliquée Université Costantine à 1 auteur)

- **Vellusi M. et al.** Long term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. J. hepatol. ; 1997 ; 26(4) : 871-879. (Référence bibliographique pour en journal pour 2 auteurs)

- **Verma.A.K, Boutwell.R.K.** Intracellular calcium and skin tumor promotion: calciumregulation of induction of epidermalornithine decarboxylase activity by the

tumor promoter 12-tetRadecanoylphorbol-13- acetate. Biochem. Biophys. Res. Co. **1981** 101(2):375-83.

- **Visioli F, Borsani L, Galli C.** Diet and prevention of coronary heart disease : the potential role of phytochemicals. Cardiovasc Res. 18 aout **2000** ; 477-87.
(Référence bibliographique de mémoire Magister Phytochimie Université Costantine à 1 auteur)
- **Volak et Stodola, 1984** : Plantes medicinales, illustration de Frantisek Severa, ed ARITA Grund, Paris, p319.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Vrijssen.R.E.L, Van hoof.L.M, Vlietinck.A.J, Vanden berghe.D.A, Boeye.A.** The poliovirusinduced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. Antivir. Res. **1987** 7(1): 35-42.
(Référence bibliographie de Mémoire Magister en Phytochimie Université Costantine à 5 auteurs)

W

- **Wattenberg, Lee.W.** Anticarcinogenic effects of several minor dietary components. Foods, Proc. Int. Conf. **1983** 157-66.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Widmer N., 1999-** Phytochimie Cardui marie fructus dosage des flavonolignans. Examens finaux de pharmacie. Grandvaux, 7-12 pp.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)
- **Wink M., 1999** - Functions of Plant Secondary Metabolites and their exploitation in biotechnology. CRC Press.
(Référence bibliographique pour un journal 1 auteur)

Z

- **Zhao J, 2006 Agarwal R.** tissue distribution of silibinin, the major active constituent of silymarin, in mice and its association with enhancement of phase II enzymes : implications in cancer che-moprevention. Carcinogenesis ; 1999 ; 20(11) : 2101-2108.
(Référence bibliographique pour en journal pour 2 auteurs)
- **Zwergel C., François G., Sergio V., Marc D., Denyse B., Gilbert K.** Aurones: Interesting Natural and Synthetic Compounds with Emerging Biological Potential. Natural product communications **2012**; 7(3):389-394.

(Référence bibliographie de Thèse Doctorat en Science Physio-Toxicologie Université Costantine à 6 auteurs)

Livre

- Livre de Plante Médicinales d'Algérie, **Abdelkader BELOUED**. Technicien supérieur. Dépt, de Botanique à l'institut National Agronomique d'El-Harrach-Alger. Edition n°2.01.4267. ©Office des Publications Universitaires : 06-2014.P68.

Site web

- www.free.flo.werp.ictures.net
- www.Détour.Santé.com/flavo-perso.htm