

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR 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

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

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes.

Intitulé du thème :

Investigation d'une étude phytochimique du Marrube
(*Marrubium vulgare*) des monts de Tessala (Sidi Bel Abbès)

Présenté par : M^{elle} : **CHAMA Sakina Samia**

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Présidente de jury	: Mme TOUMI F	(Pr. UDL-SBA)
Examineur	: Mme BENNABI F	(MCA. UDL-SBA)
Promoteur	: Mr BELMOKHTAR Z	(MCA. UDL-SBA)

Année universitaire 2019 - 2020

Session : « 01 »

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي جَعَلَ الْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالَّذِي
يُعِيدُ النَّاسَ
وَالَّذِي جَعَلَ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي جَعَلَ الْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالَّذِي
يُعِيدُ النَّاسَ
وَالَّذِي جَعَلَ

Dédicace

Avec l'aide et la protection d'ALLAH

Je dédie ce modeste travail à

Ma très chère mère, Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

Mon père BENALI, Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Ma sœur SARA, mes frères ISMAIL, AZZEDDINE et ZAKARIA Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité

Mes très chères copines FATIMA ZOHRRA, NOUREL HOUDA, LAHCEN FATIMA.

ET mes amis ABOURA HAMZA ET REDOUANE

A toutes ma famille et mes amies.

A toute la promotion 2020



Remerciements

Au terme de ce travail, je rends grâce à **DIEU**, Le tout Puissant et Miséricordieux, de m'avoir donné le courage et la patience pour mener à bien et à terme ce modeste travail.

Mes plus sincères remerciements s'adressent à mon encadreur Mr **BELMOKHTAR ZOUBIR** qui a dirigé ce travail avec beaucoup de compétence, Son expérience, ses encouragements et ses conseils ont été décisif dans le développement de ce travail.

Je tiens également à remercier Mme, **TOUMI FAWZIA** Professeur à l'université de Sidi Bel Abbés D'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens à exprimer mon profonde gratitude et mes sincères remerciements à **BENNABI FAIZA** qui a également accepté d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier monsieur **MEKHFI NABIL** pour son aide précieuse et sa présence qui m'ont permis de m'adapter facilement au sein du laboratoire.

Enfin un humble merci à mes amis, mes collègues en Master **II** et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de cette œuvre.



Dédicace	I
Remerciements	II
Sommaire	III
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des abréviations.....	VIII
Résumé	IX
Abstarct	X
الملخص	XI
Introduction	1

Chaiptre I: *Marrubuim vulgare*

1Famille des Lamiacées :	2
2Présentation botanique :.....	2
2.1Présentation botanique du genre <i>Marrubuim</i> :	2
2.2Présentation botanique de l'espèce <i>Marrubuim vulgare</i> :.....	3
3Position systématique :	3
4Répartition géographique :	4
5Composition chimique :.....	4
6Utilisation traditionnelle :.....	5
7Toxicité :.....	5

Chapitre II : Les composés phénoliques

1Les composés phénoliques :.....	7
1.1Définition :	7
1.2Classification des polyphénols :	8

1.2.1	Les flavonoïdes :	8
1.2.2	Les tanins :	9
1.2.3	Les coumarines :	10
1.2.4	Les anthocyanes :	11
1.2.5	Les Quinones :	11
1.2.6	Les anthoquinones :	11
1.2.7	Les lignines :	11
1.2.8	Les stilbènes :	12
1.2.9	Les acides phénoliques :	12
1.3	Propriétés thérapeutiques et utilisation de la plantes :	13
Chapitre III : Les antioxydants		
1	Le stress oxydant :	15
1.1	Définition :	15
1.2	L'origine du stress oxydatif :	15
1.3	Les maladies liées au stress oxydatif :	15
2	Les radicaux libres :	16
2.1	Définition :	16
2.2	Différents types des radicaux libres :	16
3	Les antioxydants :	17
3.1	Définitions :	17
3.2	Les différents d'antioxydants :	17
3.2.1	Les antioxydants enzymatiques :	17
3.2.2	Les antioxydants non enzymatiques :	17
3.2.3	Les antioxydants synthétiques :	18
4	Mécanisme d'action des antioxydants :	19
5	Polyphénols comme antioxydants :	19

Chapitre VI : Matériel et méthodes

1Présentation de station d'étude Tessala :.....	20
2Matériel végétal :.....	21
3Extraction :	21
a.Extraction obtenu par macération dans l'éthanol :.....	21
b.Extraction obtenu par ébullition sous reflux :.....	21
4Dosage des composéé phénoliques :.....	22
a.Dosage des polyphénols totaux :	22
b.Dosage des flavonoïdes :	23
5Etude de l'activité anti-oxydative par DPPH :	23

Chapitre V : Résultats et discussion

1Rendement des extraits de <i>Marrubium vulgare</i> :.....	25
2Teneur en polyphénols totaux	: 26
3Teneur en flavonoïdes :.....	27
4Activité antioxydante :	29
Conclusion.....	31
Référence bibliographique	32

Figure 1 : Description botanique de <i>Marrubium vulgare</i> (Bardet et al, 2008).....	3
Figure 2 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants (Choi et al. 2011).	15
Figure 3 : Carte de position géographique des monts de Tessala (Bachir Bouiadjra, 2011)	21
Figure 4 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.....	24
Figure 5 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux	25
Figure 6 : Histogramme du rendement d'extraction du principe actif du <i>Marrubium vulgare</i> par deux techniques differentes	26
Figure 7 : Histogramme montrant les teneurs en polyphénols totaux des extraits de <i>Marrubium vulgare</i>	28
Figure 8 : Histogramme montrant les teneurs en flavonoides des extraits de <i>Marrubium vulgare</i>	29
Figure 9 : Histogramme montrant le pouvoir anti radicalire (contre le DPPH) des extraits bruts de <i>Marrubium vulgare</i>	30

Liste des Tableaux

<u>Tableau 1</u> : Les principales classes des composés phénoliques (Crozier et al, 2006).....	7
<u>Tableau 2</u> : Les différentes structures des flavonoïdes (Bruneton, 1999).	8
<u>Tableau 3</u> : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Bruneton 1999, Hennebelle, 2006).	14
<u>Tableau 4</u> : Rendement des extraits de <i>Marrubium vulgare</i>	26
<u>Tableau 5</u> : Teneur en polyphénols totaux des extraits bruts de <i>Marrubium vulgare</i>	27
<u>Tableau 6</u> : Teneur en flavonoides totaux des extraits bruts de <i>Marrubium vulgare</i>	28
<u>Tableau 7</u> : Activité antioxydante des extraits du <i>Marrubium vulgare</i>	30

DPPH : Diphenylpicrylhydrazyl.

ERO : Espèces Réactive Oxygénés.

GSH : Glutathion.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50%.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

O₂ : Oxygène.

SOD : Superoxyde dismutase.

mg : milligramme

µg : microgramme

UV : Ultras Violet



La région de Tessala (wilaya de Sidi Bel-Abbés) présente une richesse spécifique du point de vue biodiversité végétale qui est utilisée sur le plan ethnobotanique et qui mérite d'être exploitée par l'industrie, surtout pharmaceutique et ce pour un développement durable.

Marrubium vulgare est une plante médicinale de la famille des Lamiacées communément connu par le nom Marriouth ou Marrube blanc, Elle est très utilisée en médecine traditionnel pour des fins thérapeutiques.

L'objectif de cette étude est une étude comparative ente entre deux technique d'extraction :

Extraction par macération dans l'éthanol 70% à température ambiante.

Ébullition sous reflux à température élève.

La première étape est l'extraction des composées phénoliques par macération dans l'éthanol 70% par l'ébullition sous reflux, qui a montré dans l'extrait hydro - éthanolique une richesse en polyphénol totaux 55,13 (μg d'EAG/mgES) et un peu moine dans l'extrait aqueux 50,95 (μg d'EAG/mgES).

La deuxième partie qui consiste à l'étude photochimique de *Marrubium vulgare*, révèle la présence des flavonoïdes.

Tandis que la quantification des flavonoïdes était moins importante dans l'extrait aqueux qui varie entre 37,43 μg EC/g EC cependant elle est inférieure à celle trouvé dans l'extrait éthanolique 43,84 μg EC/g ES.

L'activité antioxydant des différents extraits a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre par le DPPH.

Le test de l'activité antioxydant prouve la capacité antioxydant de notre extrait avec un IC_{50} de DPPH qui varie entre 700($\mu\text{g}/\text{ml}$) dans l'extrait aqueux et 650 ,8 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) dans l'extrait éthanolique.

Mot clés : *marrubuim vulgare*, extraction, flavonoïdes, composes phénoliques, activité antioxydant.

The region of Tessala (wilaya of Sidi Bel-Abbés) presents a specific richness from the point of view of vegetal biodiversity which is used on the ethnobotanical level and which deserves to be exploited by industry, especially the pharmaceutical industry, for a sustainable development.

Marrubium vulgare is a medicinal plant of the Lamiaceae family commonly known by the name Marriouth or White Marrubium. It is widely used in traditional medicine for therapeutic purposes.

The objective of this study is a comparative study between two extraction techniques:

Extraction by maceration in 70% ethanol at room temperature.

Boiling under reflux at elevated temperature.

The first step is the extraction of the phenolic compounds by maceration in 70% ethanol by boiling under reflux, which showed in the hydro - ethanolic extract a richness in total polyphenol 55.13 (μg of EAG/mgES) and a little monk in the aqueous extract 50.95 (μg of EAG/mgES).

The second part, which consists of the photochemical study of *Marrubium vulgare*, reveals the presence of flavonoids.

While the quantification of flavonoids was less important in the aqueous extract which varies between 37.43 μg EC/g EC however it is lower than that found in the ethanolic extract 43.84 μg EC/g ES.

The antioxidant activity of the different extracts was evaluated by the DPPH free radical scavenging method.

The antioxidant activity test proves the antioxidant capacity of our extract with a DPPH IC₅₀ which varies between 700 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) in the aqueous extract and 650.8 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) in the ethanolic extract.

Keywords: *Marrubuim vulgare*, extraction, flavonoids, phenolic compound, antioxidant activity.

تقدم منطقة تسالة (ولاية سيدي بلعباس) ثراءً محددًا من وجهة نظر التنوع البيولوجي النباتي الذي يستخدم علم النبات العرقي والذي يستحق أن تستغله الصناعة، وخاصة الأدوية، وهذا من أجل التنمية المستدامة.

Marrubium vulgare هو نبات طبي من عائلة **Lamiaceae** المعروف باسم الماريوث ، وهو يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لأغراض علاجية.

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة مقارنة بين تقنيتي الاستخراج:

✓ الاستخلاص بالنقع في الإيثانول 70٪ في درجة حرارة الغرفة

✓ الغليان تحت الارتجاع عند درجة حرارة عالية

المرحلة الأولى هي استخلاص المركبات الفينولية عن طريق النقع في الإيثانول بنسبة 70 ٪ عن طريق الغليان تحت الارتجاع، والذي أظهر في المستخلص المائي الغني ثراء في إجمالي البوليفينول 55.13 (ميكروغرام من **EAG / mgES**) وقليل من الراهب في المستخلص المائي 50.95 (ميكروغرام **EAG / mgES**).

المرحلة الثانية: التي تتكون من دراسة كيميائية ضوئية لفصيلة **Marrubium**، يكشف عن وجود مركبات الفلافونويد بينما كان تحديد كمية مركبات الفلافونويد أقل أهمية في المستخلص المائي الذي يتراوح بين 37.43 ميكروغرام **EC / g** **EC**، إلا أنه أقل من الموجود في المستخلص الإيثانولي 43.84 ميكروغرام **EC / g ES**

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من المستخلصات المختلفة بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة **DPPH**

يثبت اختبار النشاط المضاد للأكسدة القدرة المضادة للأكسدة في مستخلصنا مع **IC50** من **DPPH** الذي يتراوح بين 700 (ميكروغرام / مل) في المستخلص المائي و650.8 (ميكروغرام / مل) في مستخلص الإيثانول

الكلمات المفتاحية: **marrubuim vulgare**، الاستخراج، مركبات الفلافونويد، المركبات الفينولية، النشاط المضاد

للأكسدة، **DPPH**



Introduction

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la flore médicinale de la région des monts de Tessala (ouest algérien) qui dispose d'une richesse singulière et variée. On compte environ 193 espèces distribuées sur 49 familles et 146 genres. Cette même flore recense 103 plantes à caractère médicinal et aromatique et à usages très diversifiés au niveau de la zone et par les populations riveraines. **(Baraka, 2008).**

Les plantes médicinales restent le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs drogues **(Maurice, 1997).**

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation,...), permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés **(Duraffourd et al. 1997).**

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous abonderons dans le premier une étude bibliographique qui concerne les composés phénoliques avec description détaillée de la plante étudiée. Le deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et qui porte sur :

La préparation des deux extraits bruts de la plante.

Le dosage des polyphénols totaux, et des flavonoïdes.

Evaluation du pouvoir piégeur de l'extrait vis-à-vis d'un radical libre (DPPH).

Chapitre I :

Marrubium vulgare

1 Famille des Lamiacées :

Selon (Isren et al, 2001). Les Labiées ou Lamiacées constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones, herbacées ou légèrement ligneuses.

La famille des Lamiacées est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ou très rarement pennatiséquées ; il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes, les inflorescences sont en cymes bipares puis unipares (Par manque de place). Le calice est synsépale, typiquement 5-mère, parfois bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est sympétale et typiquement bilabiée, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée peut consister soit en quatre étamines didynames, soit en seulement deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes. (Guignard, 2001; Quezel et Santa, 1963).

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha* (la Menthe), *Lavandula* (la Lavande), *Marrubium* (le Marrube) , *Nepeta* (L'Herbe aux chats), *Ocimum* (le Basilic), *Origanum* (l'Origan), *Rosmarinus* (le Romarin), *Salvia* (la Sauge), *Satureja* (la Sarriette) et *Thymus* (le Thym). (Judd et al, 2002).

2 Présentation botanique :

2.1 Présentation botanique du genre Marrubium :

Le genre *Marrubium* un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Les inflorescences sont en glomérules verticillés. Les bractées sont linéaires aiguës. Les fleurs sont blanches, munis d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. En Algérie, il existe 7 espèces du genre *Marrubium* : *Marrubium vulgare*, *M. spinum*, *M. peregrinum*, *M. alysson*, *M. alyssoides*, *M. willkommii* et *M. deserti* (Quezel et Santa, 1963).

2.2 Présentation botanique de l'espèce *Marrubium vulgare* :

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace pouvant atteindre 80 cm de hauteur, à tige quadrangulaire cotonneuse. Les feuilles pétiolées, ovales ou arrondies, à limbe crénelé sur les bords sont blanchâtres et duveteux sur la face inférieure. Les fleurs petites, blanches, avec un calice à dents crochues sont groupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles. Le fruit est un tétra-akène. Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre et amère (Aouadhi, 2010).



Figure 1: Description botanique de *Marrubium vulgare* (Bardet et al, 2008).

3 Position systématique :

Marrubium vulgare est connu en Algérie par le nom Marriouth. (Quezel et Santa, 1963) Au Maroc c'est Merrîwt (Novak et al, 1966), un autre en Tunisie Marroubia (Bellakhdar, 1997), en français : Marrube blanc et en Anglais : Harehound, En Italien : Marrubbio (Quezel et Santa, 1962, 1963).

La position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* (Judd et al, 2002)

Règne :	Végétale.
Classe :	Eudicotylédones.
Embranchement :	Angiosperme.
Sous-classe :	Gamopétale.
Ordre :	Lamiales.
Famille :	Lamiacées.
Genre :	<i>Marrubium</i> .
Espèce :	<i>Marrubium vulgare</i> L.

4 Répartition géographique :

Cette plante est commune dans toute l'Algérie et presque dans toute l'Europe en dehors de l'extrême Nord, Australie et New Zélande (Baba aissa, 1999).

Elle se trouve aussi au Maroc et en Tunisie, surtout en région méditerranéenne (Bonnier, 1990).

5 Composition chimique :

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol. Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique. En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique). Toutefois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% : α -pinène, camphène, lomonène). (Wichtl et Anton, 2003).

6 Utilisation traditionnelle :

Le marrube blanc est utilisé dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies, des bronchites asthmatiformes des toux sèches et de la coqueluche. Elle fluidifie les mucosités. La décoction est employée comme antidiabétique **(Bellakhdar, 1997)**.

Ainsi, très utilisé en médecine traditionnelle comme expectorant, antispasmodique, antidiabétique, diurétique et en cas d'infections respiratoires. Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité **(Dellile, 2007)**.

Elle est utilisée aussi pour le traitement de dyspepsies et la perte d'appétit **(Djahra et al, 2013)**.

La plante du *Marrubium vulgare* a été utilisée contre les problèmes cardiaques, hépatiques et digestifs et comme substitut de la quinine pour traiter la malaria, est aujourd'hui surtout employé pour les troubles respiratoires. On vend des bonbons à base de Marrube contre la toux. Les parties aériennes fournissent des principes actifs et une huile volatile. On peut les consommer en infusion chaude ou froide ou sous forme de sirop. À proscrire pendant la grossesse **(Dib et al, 2016)**.

En Algérie, le marrube blanc est utilisé en médecine traditionnelle contre la diarrhée, le diabète, le rhumatisme, le rhume et les douleurs respiratoires **(Belhattab et Larous, 2006)**.

7 Toxicité :

C'est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il y a une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie **(Aouadhi, 2010)**.

Chapitre II :

Les composés phénoliques

1 Les composés phénoliques :

1.1 Définition :

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui mentionnée dans le **tableau 1**, qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.), et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (**Macheix et al, 2005**).

Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge). (**Edeas, 2007**)

Tableau 1: Les principales classes des composés phénoliques (**Crozier et al, 2006**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	P-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pommes de terre, pomme citrus
C6-C4	coumarines	scopolétine, esculétine	Noix
C6-C2-C6	Naphtoquinones		Vigne
C6-C3-C6	Stilbènes	Juglone	
	Flavonoïdes	Resvératrol	Fruit, légumes, fleurs
	-flavonols		Fleurs fruits rouges
	-anthocyanes	Kaempférol, quercétine	Pomme, raisin
	-flavanols	Cyanidine, pélargonidine	Citrus
	-flavanones	Catéchine, épicatechine	Soja, pois
(C6-C3)2	Isoflavonoïdes	Narigénines	Pin
(C6-C3)n	Lignanes	Daidzéines	Bois, noyau des fruits

Les composés phénoliques

(C15)n	Ligniaes Tannins	Pinorésinol	Raisin rouge,kaki
--------	---------------------	-------------	-------------------

1.2 Classification des polyphénols :

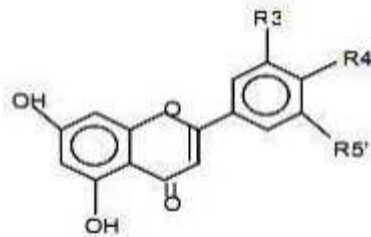
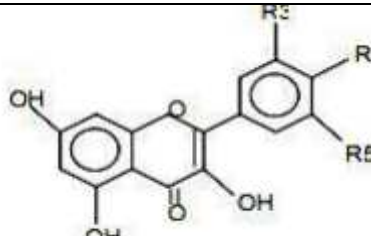
1.2.1 Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoume et al, 2006). Se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées). (Harborne et Williams, 2000).

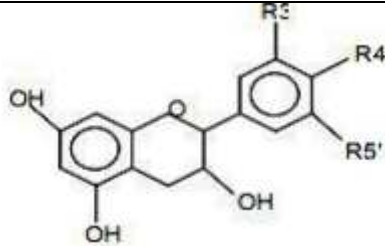
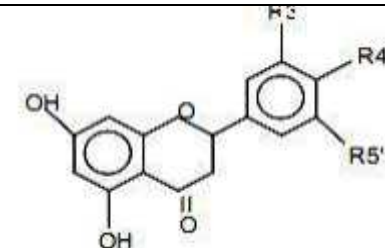
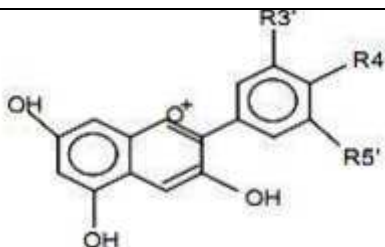
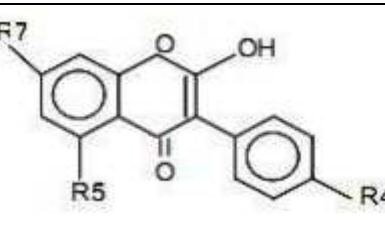
Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestern et al, 2001, Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (De Rijke, 2006). Les différentes structures des flavonoïdes sont mentionnées dans le Tableau 2 (Bruneton, 1999).

Tableau 2 : Les différentes structures des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Classe	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH4	H	Diasmétine
Flavonols		H	OH	H	kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine

Les composés phénoliques

Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

1.2.2 Les tanins :

Les tanins Sont des composés polyphénoliques, ayant la capacité de précipiter les protéines. Ils sont présents essentiellement dans les écorces. Ils forment, après coagulation, des composés très stables et les protéines. Ils ont pour effet principal, pour les plantes, de les rendre peu digestibles (**Paris et Hurabielle, 1981**), Utilisés depuis l'Antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et de leurs produits dérivés. Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Sarni-Manchado et al, 2006**).

a- les Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Paris et Hurabielle, 1981**).

Tanins galliques (Gallo tanins) : Ils donnent par hydrolyse des oses et de l'acide gallique (**Paris et Hurabielle 1981**).

Tanins ellagiques (Ellagitanins) : Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle, 1981**).

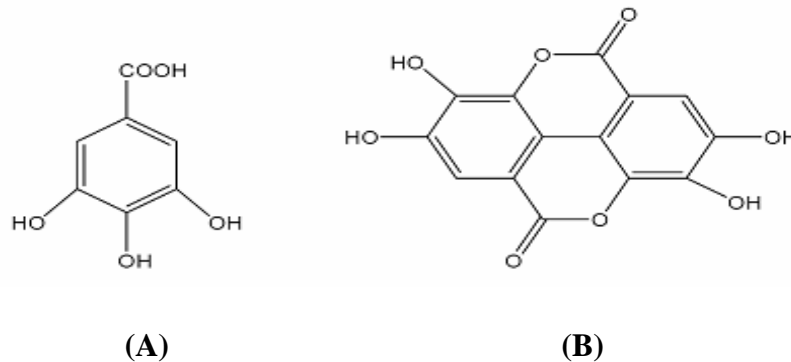


Figure 02 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) (**Cowan, 1999**)

b- les Tanins condensés :

Les tanins condensés ou tanins catéchiques sont des substances qui ne sont pas hydrolysées par les acides, ni par la tannase. Les acides forts à chaud ou les agents d'oxydation les convertissent en substances rouges ou brunes, insolubles dans la plupart des solvants. Par distillation sèche, ils fournissent du pyrocatechol. Ces tanins dérivent des catéchols par condensation de molécules et ils sont d'ailleurs toujours accompagnés de catéchols dans les plantes fraîches (**Paris et Moyse, 1976**).

1.2.3 Les coumarines :

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone (**O'Kennedy et Thomes, 1997**).

Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosides sont plus ou moins solubles dans l'eau.

Elles sont considérées comme des phytoalexines, celles-ci sont des molécules de faibles masses moléculaires provenant de voies métaboliques variées comme celle des phénylpropanoïdes ou des sesquiterpènes. Les phytoalexines sont synthétisées aux niveaux des sites d'infections et ont une activité antimicrobienne démontrée *in vitro* (**Hoffmann.L, 2003**).

1.2.4 Les anthocyanes :

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bessas et al, 2007**).

1.2.5 Les Quinones :

Les quinones Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones). (**Bruneton, 1993**).

1.2.6 Les anthoquinones :

Ce sont les principaux constituants de plantes comme le Séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de Chine (*Rheum palmatum*), qui, toutes deux, agissent sur la constipation. Elles ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, provoquent des contractions des parois intestinales et stimulent les évacuations environ dix heures après la prise. Elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal. (**Iserin, 2001 ; Bruneton, 1999**).

1.2.7 Les lignines :

Les lignines constituent une classe importante de métabolites secondaires dans le règne végétal. La distribution botanique est large : plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles, ils ont été découverts dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (**Midoun, 2011**).

1.2.8 Les stilbènes :

Les Stilbènes Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier et al, 2006**).

1.2.9 Les acides phénoliques :

a- Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque :

Les acides phénols en C6-C1, dérivés Hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que Combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres Aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (**Bruneton, 1993**).

b- Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique :

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides *o*-coumarique, *o*-férulique) sont peu fréquents (**Bruneton, 1993**).

c- Phénols simples :

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes (**Cowan, 1999**).

1.3 Propriétés thérapeutiques et utilisation de la plante :

Les plantes ont une capacité intrinsèque à synthétiser des métabolites secondaires dont certains sont des composés aromatiques de types phénols. Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al, 2011**).

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les

Les composés phénoliques

activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton et al, 2000; Ksouri et al, 2007).

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères et des nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (Manach, et al, 2005)

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (Bruneton, 1999). Ces activités sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Bruneton 1999, Hennebelle, 2006).

Composés	Phénoliques	Activité biologique
Ac. Phénols	Ac. Cafeique	Antibactérienne
	Ac Salicylique	Antifongique, antioxydante
Tanins	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur
Flavonoïdes	Lutéoline Catéchine Hespéridine Quercétine Naringénine	Antitumorale, anticarcinogène, anti -inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
Coumarines	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antioedémateuse

Chapitre III :

Les antioxydants

2 Le stress oxydant :

2.1 Définition :

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydant, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose. (Belaïch et al. 2015).

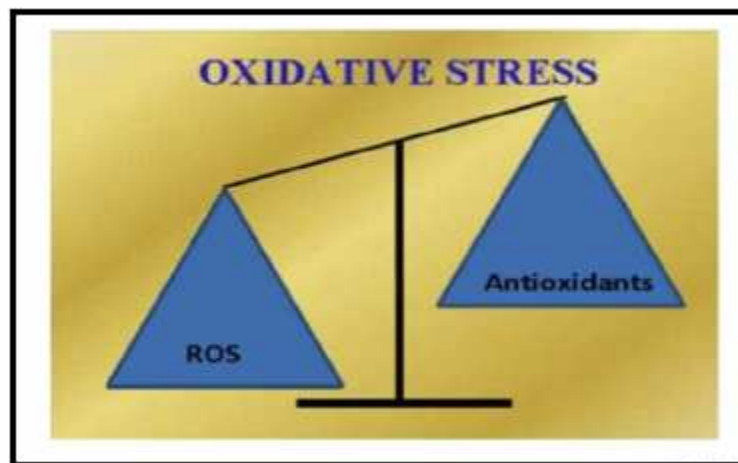


Figure 2 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants (Choi et al. 2011).

2.2 L'origine du stress oxydatif :

Le stress oxydant peut avoir diverses origines, tel que des facteurs environnementaux comme : l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (Thanan et al. 2014).

2.3 Les maladies liées au stress oxydatif :

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de

radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

3 Les radicaux libres :

3.1 Définition :

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (« libre») en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Boubekri C, 2014**).

3.2 Différents types des radicaux libres :

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le monoxyde d'azote ($NO\bullet$), le radical peroxyde ($ROO\bullet$) et le radical alkoxyde ($RO\bullet$). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**)

4 Les antioxydants :

4.1 Définitions :

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu H. 2004**).

4.2 Les différents d'antioxydants :

4.2.1 Les antioxydants enzymatiques :

L'un des systèmes de défense antioxydants enzymatiques est constitué de trois enzymes : le superoxyde dismutase SOD, la glutathion peroxydase GSH-Px et la catalase. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michel et al.2001**).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, le glutathion transférase, les thiorédoxines réductases ou les thiorédoxines peroxydases. La plupart de ces enzymes, de même que les enzymes de réparation des dommages oxydants, vont utiliser un donneur d'équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante (**Favier, 2003**).

4.2.2 Les antioxydants non enzymatiques :

Ce sont des antioxydants apportés par l'alimentation ce sont des molécules de petite taille telles que (glutathion, acide urique, bilirubine, glucose, vitamines A, C, E, ubiquinone, caroténoïdes, flavonoïdes) (**Halliwell et al. 1999**).

4.2.2.1 L'acide ascorbique :

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$, mais aussi avec les radicaux superoxydes $\text{O}_2^{\cdot-}$. En outre, l'ascorbate capte les radicaux peroxydes RO_2^{\cdot} . En réagissant avec ces divers oxyradicaux, l'ascorbate est oxydé en radical ascorbyle ($\text{Asc}^{\cdot-}$) qui est relativement inerte vis-à-vis des matériaux biologiques.

L'ascorbate possède une propriété importante qui est la réparation possible de deux autres antioxydants, le glutathion et l' α -tocophérol à partir de leurs formes radicalaires. Il est recyclé, tout au moins en partie, par dismutation du radical ascorbyle (**Gardès-Albert et al. 2003**).

4.2.2.2 Le α -tocophérol :

La vitamine E ou α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydes lipidiques $RO_2\cdot$ qui propagent les chaînes de peroxydation. La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α -tocophéryle, tandis que le radical peroxyde est réduit en une molécule d'hydroperoxyde. De plus, l' α -tocophérol capte les radicaux superoxydes (sous leur forme protonée HO_2), les radicaux hydroxyles $\cdot OH$, ainsi que l'oxygène singulet 1O_2 .

Bien que la concentration d' α -tocophérol soit relativement faible in vivo, le recyclage de ce dernier par des systèmes réducteurs dont le plus important est l'ascorbate, lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (**Gardès-Albert et al. 2003**).

4.2.2.3 Les oligo-éléments :

Ils interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi eux on cite : le zinc, le sélénium et le manganèse (**Pastre, 2005**).

4.2.2.4 Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Les plus importants sont le bêta-carotène, l' α -carotène et le lycopène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet (**Causse, 2008**).

4.2.2.5 Le glutathion :

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine, localisé au niveau du cytosol et des mitochondries. C'est le cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes, il joue un rôle important, dans la protection des tissus et la réparation des protéines oxydées (**Zhang et Forman, 2012 ; Carochi et Ferreira, 2013**).

4.2.3 Les antioxydants synthétiques :

Il s'agit du butylhydroxytoluène (BHT), du butylhydroxyanisole (BHA) et des esters de l'acide gallique : gallate de propyle, gallate doctyle, et de dodécyle. Le BHT est un antioxydant de rupture de chaîne, très efficace et peu coûteux. Le BHA est un mélange de deux isomères de position dont l'efficacité est un peu inférieure à celle du BHT. Il existe d'autres antioxydants synthétiques peu utilisés tels que la TBHQ (tertiobutylhydroquinone) utilisée pour la conservation des huiles brutes, l'acide nordihydrogualarétique (NDGA), ce dernier est utilisé dans les produits à usage topique et le 4-hydroxyméthyl 2,6-ditertiobutylphénol ou Ionox 100, dont les propriétés antioxydantes sont voisines de celles du BHT (Johnson, 1988).

5 Mécanisme d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires (Amadou, 2005).

6 Polyphénols comme antioxydants :

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu. Suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite avec une plus grande stabilité chimique que le radical initial. L'interaction des groupes hydroxyle de composés phénoliques avec les électrons π du noyau benzénique donne aux molécules des propriétés particulières, le plus notamment la capacité à générer des radicaux libres, où le radical est stabilisé par la délocalisation. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des pro-oxydants (TSAO, 2010).

Chapitre IV :

Matériel et Méthodes

7 1-Présentation de station d'étude Tessala :

La zone montagneuse de Tessala est limitée à l'Ouest par les monts de Berkèche et au sud par la plaine de Sidi Be Abbés, la chaîne montagneuse de Tessala est orientée du SW-NE. Elle est caractérisée par des sommets qui atteignent des altitudes moyennes de 600 mètres. Le djebel Tessala culmine à 1061m. Le paysage y dessine une morphologie accidentée avec des pentes fortes accentuées par un ravinement très marqué. En effet, ces versants sont disséqués par un nombre important d'oueds et affluents qui transportent des matériaux fins et caillouteux pour les déposer en aval au niveau de la plaine de Sidi Bel Abbés.

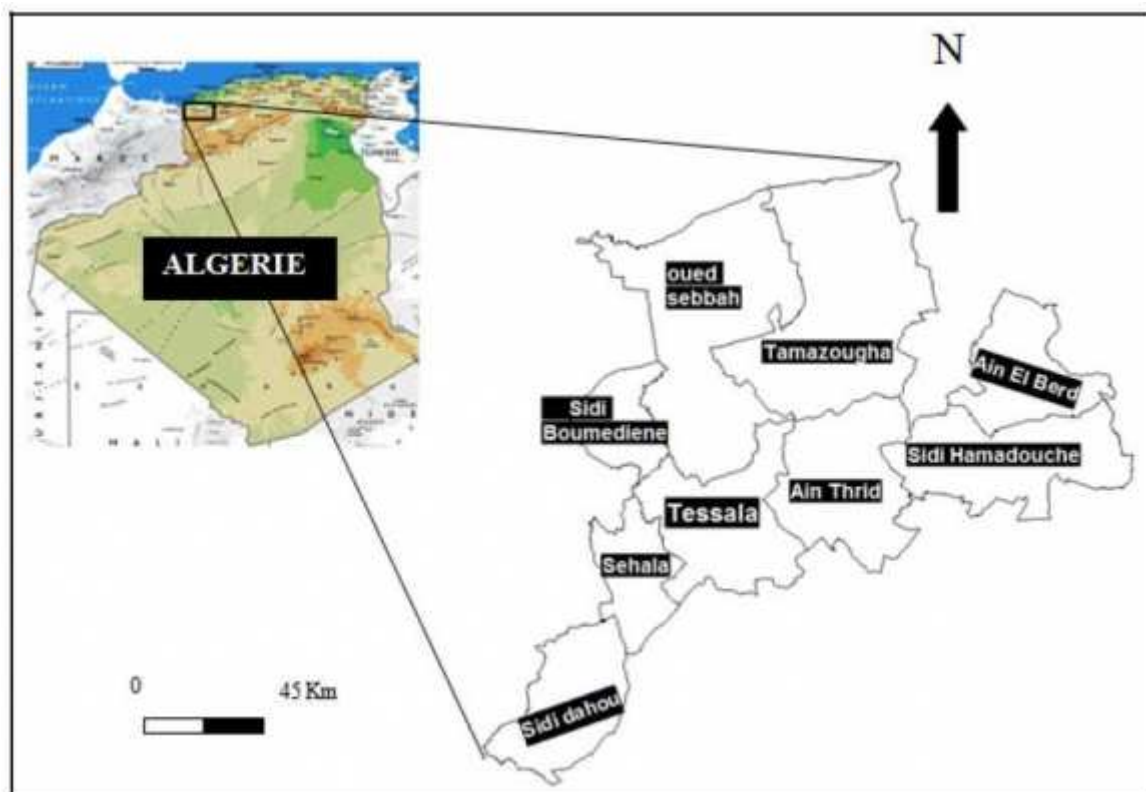


Figure 3 : Carte de position géographique des monts de Tessala (**Bachir Bouiadjra, 2011**)

La région de Tessala s'éloigne du chef-lieu de la wilaya de Sidi Bel Abbes d'environ 10 Km et est traversée par l'axe routier RN°95 reliant Sidi Bel Abbés- Ain T'émouchent. Elle s'inscrit entre les coordonnées géographiques suivantes :

X1= 35°17'20.34'', Y1= 0°51'54.67''

X2= 35°20'31.04'', Y2= 0°42'54.96''

Elle est délimitée :

Au Nord, par les communes de Sidi Boumediene et Oued Sebbah (wilay d'AinT'émouchent).

A l'Ouest par la commune de Shala.

A l'Est, par la commune d'Ain Trid ;

Au Sud, par la commune de Sidi Lahcen

8 2- Matériel végétal :

Les échantillons utilisés dans cette étude sont les feuilles de *Marrubium vulgare* ces dernières ont été récoltées le 12 juillet 2019 de la région de tessala (Wilaya de sidi bel abbés). Le séchage est réalisé à l'abri de la lumière et de à une température ambiante. Ensuite le matériel végétal est réduit en poudre fine, puis conservé dans des bocaux hermétique et conservée à sec à l'abri de l'humidité. la poudre végétale de la plante Marrubuim vulgare a subie différentes réactions chimiques, afin de confirmer la présence ou l'absence de certain métabolismes secondaire.

9 Extraction :

Pour une étude comparative nous avons réalisé deux techniques d'extraction

9.1 Extraction obtenu par macération dans l'éthanol :

L'extraction hydro-éthanolique est préparée par un mélange de 5 g de poudre végétale avec 50 ml d'éthanol 70% puis agitation pendant une nuit, ensuite le premier filtrat obtenu est stocké dans le réfrigérateur à 4°C puis, on ajoute 50 ml d'éthanol 70% sur le résidu obtenu ensuite agiter pendant une nuit, le lendemain le deuxième filtrat obtenu est mélangé avec le premier filtrat. Par la suite le filtrat total est évaporé à sec sous pression 40°C dans Rota-vapeur, le résidu sec obtenu est conservé dans un flacon teinté au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

9.2 Extraction obtenu par ébullition sous reflux :

5 g gramme de poudre végétale sont mis dans un ballon a fon rond puis 100 ml d'eau distillée est versé sur la poudre, une simple agitation est appliquée afin d'homogénéiser la solution. L'extraction est réalisée à une température de 100°C pendant 30 mn.

L'extrait est récupéré par filtration après refroidissement, le filtrat évaporé à sec soumis à une évaporation d'eau distillée sous pression à 40 °c dans un Rota-vapeur.

10 Dosage des composéé phénoliques :

10.1 Dosage des polyphénols totaux :

Le contenu en polyphénols totaux des extrais aqueux et hydro-éthanolique a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu par **Li et al (2007)**, cette réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique de la réaction Folin-Ciocalteu par les polyphénole en milieu alcalin (**Catalano et al, 1999**).

Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PM_{12}O_{40}$) qui est un acide de couleur jaune est réduit en oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) qui absorbe fortement a une longueur d'onde de l'ordre 760 nm .

A 100 µl d'extrait éthanolique est ajoutée 1.8ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Après agitation vigoureuse au vortex, le mélange est maintenu au repos pendant 3 min, puis on lui additionne 1.2 ml d'une solution de CO_3Na_2 (7,5 %). le mélange est laissé au repos pendant 90 min à une température ambiante et a l'obscurité. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.

Une gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations allant de 0 à 100 µg/ml (**figure 4**).

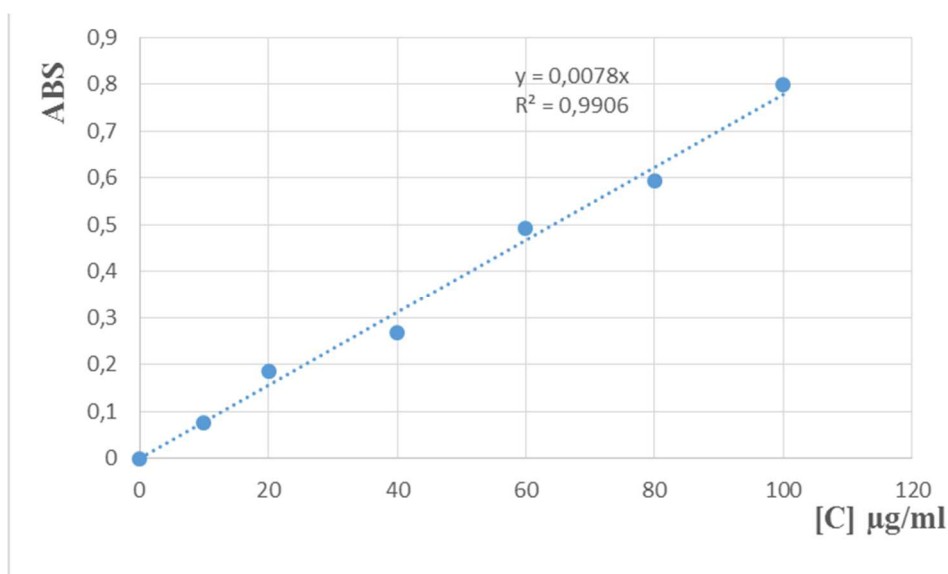


Figure 04 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols

Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en mg d'acide gallique par gramme de matière sèche ($\mu\text{gAG}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ES}$)

10.2 Dosage des flavonoïdes :

La méthode du chlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extrais aqueux et hydro-éthanolique (**Bahorun et al, 1996**).

5 ml d'eau distillée sont mélangés à 1 ml d'extrait éthanolique et 0.3 ml de nitrite de sodium à 5 % ; on laisse reposer le mélange 5mn à température ambiante à l'obscurité. Ce mélange est ensuite additionné à 0.6 ml de chlorure d'aluminium à 10 % ; après un repos de 10 mn à l'obscurité ; 2 ml de NaOH 1M est ajouté. Le mélange est soumis à une agitation au vortex, la densité optique est lue à une longueur d'onde (λ) de 510nm.

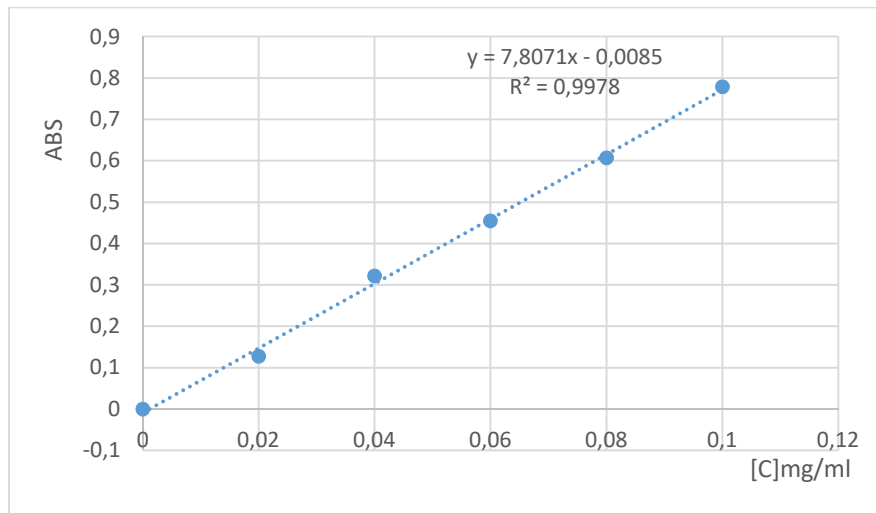


Figure 05 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes a été mesurée en se référant à une courbe étalon dressée à partir d'une série de solutions étalons de catéchine ayant des concentrations de 0 à 100 µg/ml (**figure 5**). Les résultats sont exprimés en µg équivalent catéchine/ mg d'extrait sec (µg EC/ mgES).

11 Etude de l'activité anti-oxydative par DPPH :

La capacité antioxydante des extraits est déterminée selon la méthode de (**Brand-Williams et al., 1995**). 0,1 ml de différentes concentrations (0,01 à 10mg/mL) de l'extrait est ajouté à 3,9 mL de DPPH à (60 µmol/L). La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 mn d'incubation dans l'obscurité. La capacité antioxydante de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation : % Inhibition = $(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) \times 100 / A_{\text{blanc}}$. A = absorbance à 517 nm.

Nous avons établi une régression linéaire entre les différentes concentrations et les pourcentages d'inhibition.

A partir de cette régression, nous avons déduit la valeur correspondante d'IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), qui correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Chapitre V :

Résultats et discussion

12 Rendement des extraits de *Marrubium vulgare* :

Les résultats présentés dans la **figure 6** et le **tableau 4** montrent que l'extrait obtenu par décoction donne un rendement plus élevé (21.95 %) et presque le double par rapport à l'extrait hydro-éthanolique qui a donné un rendement de même observation a été faite par **Ghedadba et al 2014** qui ont trouver que l'extrait aqueux est plus important et aussi presque le double que l'extrait alcoolique avec des rendements de (12,98 %) et (10,9 %) respectivement.

Tableau 4: Rendement des extraits de *Marrubium vulgare*

L'extrait	Rendement (%)
Extrait aqueux ébullition sous reflux	21.95
Extrait hydro-éthanolique	11

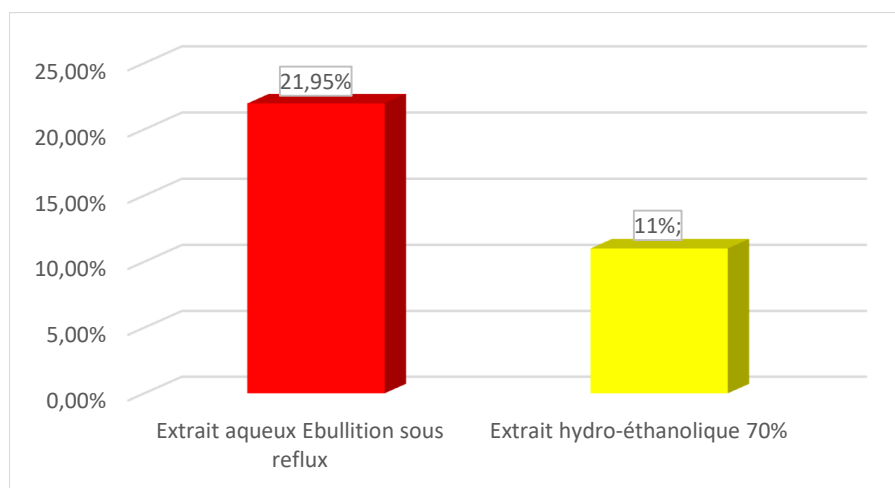


Figure 06 : Histogramme du rendement d'extraction du principe actif du *Marrubium vulgare* par deux techniques différentes

La préparation de l'extrait brut hydrométhanolique de la même espèce a donné un rendement qui correspond à un pourcentage de 21 %, tandis que l'extrait brut éthanolique a donné un rendement qui correspond à un pourcentage de 12%. (HAMEG et TALEB, 2014).

A la lumière de ces résultats, on peut dire que le *Marrubium vulgare* possède beaucoup plus des molécules hydrosolubles. Cela pourrait être dû à la polarité plus élevée de l'eau, à l'effet de la température d'extraction élevée et également à la présence d'une plus grande quantité de constituants solubles dans l'eau.

Le rendement de l'extraction dépend de la nature chimique des composés phytochimiques, la méthode d'extraction utilisée et la taille des particules d'échantillon (DO et al 2014).

13 Teneur en polyphénols totaux :

Les teneurs en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut hydro-éthanolique et de l'extrait obtenu par décoction ont été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (μg EAG/mg ES).

Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux des extraits bruts de *Marrubium vulgare*.

Extrait	Teneur en polyphénols totaux (μg d'EAG/mg ES)
Extrait aqueux ébullition sous reflux	50.95
Extrait hydro-éthanolique	55.13

Pour les deux extraits de la plante étudiée (*Marrubium vulgare*), nous avons remarqué une légère variabilité des teneurs en polyphénols totaux. Une teneur un peu plus élevée est constatée dans l'extrait hydro-alcooloque, elle est de l'ordre de 55.13 μg EAG/mgES, et pour l'extrait obtenu par décoction elle est de l'ordre de 50.95 μg EAG/mgES.

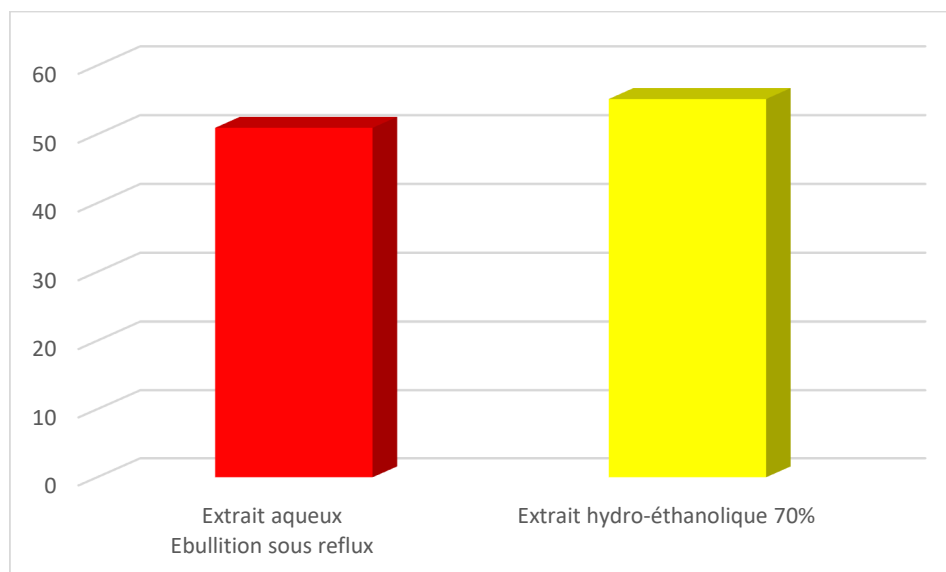


Figure 07: Histogramme montrant les teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Marrubium vulgare*

14 Teneur en flavonoïdes :

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait obtenu par hydro-éthanolique et de l'extrait obtenu par décoction du *Marrubium vulgare*, est représentée dans la **Figure 9**, et le **tableau 6**, cette concentration a été déterminée en utilisant la méthode spectrophotométrique avec du chlorure d'aluminium. Les quantités sont exprimées en μg équivalent à la catéchine par mg d'extrait sec ($\mu\text{gEC}/\text{mgES}$).

Tableau 6 : Teneur en flavonoides totaux des extraits bruts de *Marrubium vulgare*.

Extrait	Teneur en flavonoides ($\mu\text{g EC}/\text{mg ES}$)
Extrait aqueux ébullition sous reflux	37.43
Extrait hydro-éthanolique	43.84

La teneur en flavonoïde varie en fonction de solvant utilisé, c'est pourquoi, (**Bruneton, 2009**) et (**Stanković, 2011**) ont signalé que les hétérosides de flavonoïdes sont solubles dans

les solvants polaires comme les mélanges méthanol-eau, alors que pour les génines (partie aglycone des flavonoïdes) sont solubles dans les solvants apolaires.

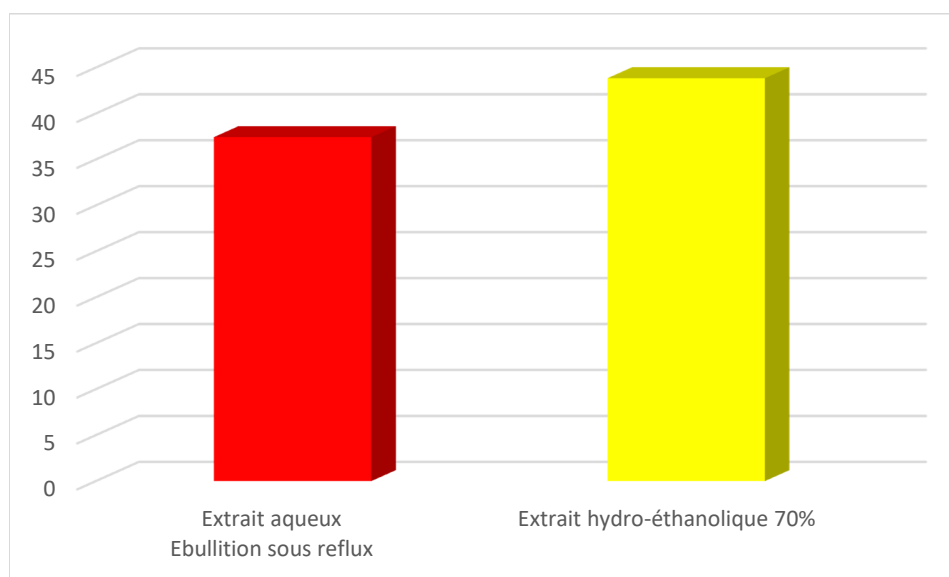


Figure 08 : Histogramme montrant les teneurs en flavonoïdes des extraits de *Marrubium vulgare*

La teneur en polyphénols dépend principalement des groupes hydroxyle, de la taille moléculaire, de la longueur des chaînes hydrocarbonées constituant, de la polarité du milieu d'extraction, du rapport du soluté au solvant et de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction (Stalikas, 2007).

Les résultats de dosage des composés phénoliques totaux ne peuvent pas indiquer exactement les teneurs des extraits en ces composés, parce que malgré la sensibilité de la méthode de Folin Ciocalteu ce réactif peut réagir encore avec les acides aminés aromatiques des protéines (surtout avec le tryptophane), les glucides réducteurs comme le glucose et le fructose et la vitamine C.

Le rapport flavonoïdes /polyphénols de *Marrubium vulgare* qui fait l'objet de notre étude est de l'ordre de 73 % pour l'extrait obtenu par décoction et de l'ordre de 79 % pour l'extrait hydroalcoolique. On suppose que les flavonoïdes sont les composés majoritaires de ces extraits, le reste peut être des composés non flavonoïdiques et qui peuvent réagir avec le Folin Ciocalteu.

15 Activité antioxydante :

Les concentrations d'inhibition à 50 % du DPPH (IC₅₀) des deux extraits sont représentées dans le **tableau 7** et la **figure 10**.

Tableau 7 : Activité antioxydante des extraits du *Marrubium vulgare*

Extrait	IC ₅₀ % DPPH (µg/ml)
Extrait aqueux ébullition sous reflux	700
Extrait hydro-éthanolique	650.8

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (**Pokorny et al, 2001**). L'extrait hydroéthanolique a révélé une activité antiradicalaires un peu plus intéressantes avec un IC₅₀ de 650.8 µg/ml contre 700µg/ml pour l'extrait obtenu par ébullition sous reflux.

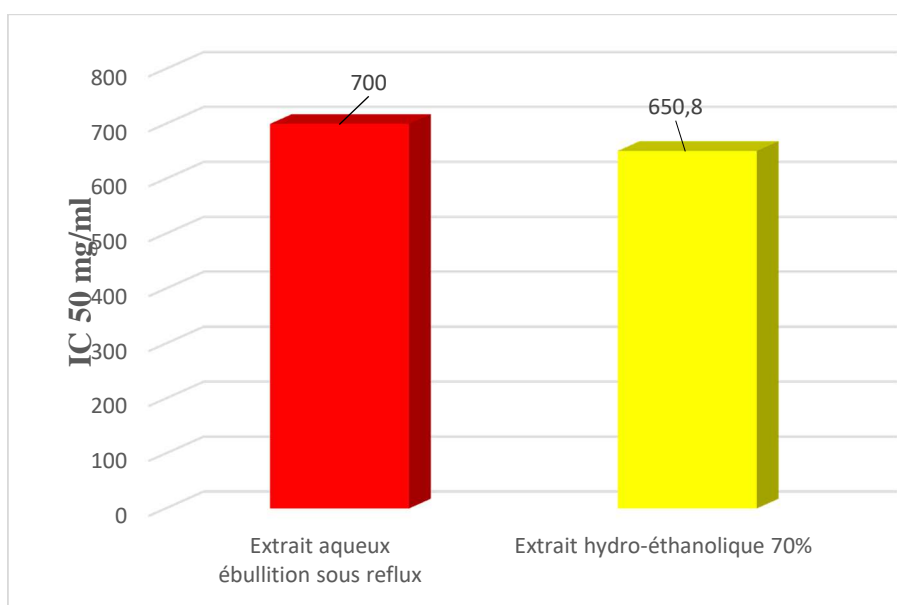


Figure 09 : Histogramme montrant le pouvoir anti radicalire (contre le DPPH) des extraits bruts de *Marrubium vulgare*

Une activité plus importante a été déterminé par **Boudjelal, (2012)**, obtenus à partir d'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* qui a montré une activité antioxydante élevée avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 0,49 mg/ml. De même un fort pouvoir antiradicalaire a été noté pour l'extrait brut methanolique de *Marrubium vulgare* qui se traduit par un IC₅₀ de 0,45 mg/ml, (**Djahra, 2014**).

Une autre étude montre un puissant effet scavager estimé à partir d'un IC₅₀ de 0,18 mg/ml de l'extrait brut méthanolique d'une autre espèce de *Marrubium* (*Marrubium peregrinum*) à partir du piégeage du DPPH lors des travaux réalisés par **Milan (2011)**.

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (**Javanovic et al., 1994, Djahra, 2014**).

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu que la partie aérienne du Marrube blanc (*Marrubium vulgare*), récoltée dans la région de Tesselle de Sidi Bel Abbés, est très riche en polyphénol totaux et en flavonoïdes, ces molécules ont une activité antioxydantes. L'extrait hydro-ethanolique présente une teneur en composé phénoliques et une activité antioxydante légèrement plus importante que l'extrait aqueux. Les flavonoïdes sont les composés majeurs des composés phénoliques.

Ces résultats confirment l'importance phytothérapeutique de la plante étudiée. D'autres activités biologiques sont nécessaires pour valoriser le *Marrubium vulgare* des monts de Tessalal de Sidi Bel Abbés.

Références bibliographique

A

- **Amadou, D. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako.
- **Aouadhi S., 2010:** mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.

B

- **Baba aïssa F., 1999 :** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Ed. Librairie moderne- Ruiba. p.46-47-194-195-231
- **Bachir-Bouiadjra S, Elzerey W, Benabdeli K., 2011.** Étude diachronique des changements du couvert végétal dans un écosystème montagneux par télédétection spatiale : cas des monts du Tessala (Algérie occidentale). *Physio-Géo (Géographie Physique et Environnement)*. 15 : 211-225.
- **Bahorum T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritias. p 83-94
- **Baraka, D. (2008).** Baraka D'inventaire des plantes médicinales dans les monts du Tessala. Mémoire de Magister, Université de Tlemcen
- **Bardet. O.,** Fedoroff. E., Causse. G., Moret. J., (2008). Atlas de la flore sauvage de Bourgogne. Co-édition Parthénope / Muséum national d'Histoire naturelle France Pp : 754
- **Belhattab R, Larous L (2006)** Essential oil composition and glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. growing wild in Algeria *J Essent Oil Res* 18: 369–73
- **Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques* 10 38-42.
- **BELLAKHDAR, J. (1997).** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle. France : Le Fennec et Ibio Press. 341p.
- **Bellakhdar, J. (1997).** pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Editions Ibis presse. Paris. pp. 764.

- **Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. 2007
- **Bonnier G., 1990 :** La grande Flore française Ed.Bllin ; Complète. Tome : 09
- **BOUBEKRI Chérifa 2014.** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques pour l'obtention Du diplôme de Doctorat Spécialité : Chimie Université Mohamed Khider – Biskra p 44.
- **Boudjelal A., 2012.** Extraction et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées de la région de M'sila, Algérie. Thèse de doctorat, Université badji Mokhtar. Annaba. 61 p.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. Technology* 28, 25–30
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2^{ème} édition, Lavoisier Techniques & Documentation Paris
- **Brunton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation., 3^{ème} ed, Paris. France., 1120p
- **Bruneton. J.,** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e édition, Edition Lavoisier TEC et DOC, 1999.
- **.Bruneton .J, (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie plantes médicinales Techniques et documentation ,3^{ème} Édition, Lavoisier, P.3, 111, 159, 197, 205, 336, 385,623
- **Bruneton J.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales,4^e éd., revue et augmentée, Tec & Doc -Éditions médicales internationales, Paris, (2009),1288.

C

- **Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

Références bibliographiques

- **Causse, M., & Renard, C. (2008).** 2. Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. Combris P. et al. Les fruits et légumes dans l'alimentation, enjeux et déterminants de la consommation. Paris: Ed Quae, 43-60
- **Choi H et al (2011).** Effects of Astaxanthin on Oxidative Stress in Overweight and Obese Adults. *Phyto Res* **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet Edt Blackwell Publishing Ltd
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.

D

- **Dellile, L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie
- **DJAHRA Ali Boutlelis, 2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L Thèse de doctorat, Université badji Mokhtar. Annaba. 57 p.
- **DIB Soumeya & BOUTELDJI Meriem Reguia 2016.** Effets insecticides de l'extrait des feuilles du Marrubium vulgare L. (Marrube blanc) sur le puceron Aphis nerii (Homoptera : Aphididae) pour l' obtention du diplôme de master .option : : Santé des plantes. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ BOUIRA .p 4.
- **Djahra, A. B., Bordjiba, O., Benkherara, S. (2013).** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (Marrubium vulgare L.). *Phytothérapie*, 11,348- 352
- **Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, et al.** Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila aromatic*. *J Food Drug Anal.* 2014; 22(3): 296–302p
- **Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. (1997).** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris,

E

Références bibliographiques

- **Edeas. M., (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*. Vol (5). Pp: 264–270

F

- **FAVIER A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-115.

G

- **Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. pp: 91-96.
- **Ghedadba N.** · Hambaba L · A. Ayachi · M. C. Aberkane · H. Bousselfela · S. M. Oueld-Mokhtar, 2014. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie* 13(2):118-129. DOI 10.1007/s10298-015-0944-4
- **GHESTERM. A, SEGUIN. E, PARIS. M, ORECCHIONI. A., 2001 .**, *Le préparateur en Pharmacie.*, 2ème ed., Ed. Tec et Doc, Paris., France. 275.
- **Guignard J.L. (2001)** .*Biochimie végétale*. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp.177-185

H

- **Hameg et taleb 2014,** Evaluation de l'activité antimicrobienne, et Antioxydante des composés phénoliques du Marrube blanc «*Marrubium vulgare*». Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. pp 84.
- **Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999).** *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd Ed. Oxford University Press. 45.p.
- **Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- **Hennebelle T.** Investigation chimique, chimio-taxonomique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larenda*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse présentée en vue de l'obtention du grade

Références bibliographiques

de Docteur en Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologie de Lille-Lille 1, Ecole Doctorale Sciences de la Matière du Rayonnement et de l'Environnement. France. 2006

- **HOFFMANN, Laurent.** Étude de métabolisme des phénylpropanoïdes. thèses doctorat. Université louis pasteur Strasbourg I, 2003

I

- **Iserin P, (2001).**Larousse encyclopédie des plantes médicinales, identification,préparation, Soins. Larousse p10, 16 ,31, 196
- **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2ème Ed.14. Paris.131-335p

J

- **Javanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.J., 1994.** Flavonoids as antioxidants. Journal of the American Chemical Society. 116: 4846-4851.
- **Johnson, D.R., Gu, L.C.** In Autoxidation and Antioxidants, John Wiley, New York, 1988, pp 433-448
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., 2002.** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P.(2002).** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ere Ed : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.

K

- **Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly. C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant. Physiol Bioch, 45: 244-249.

L

- **Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O et al.** Stress oxydant et pathologies humaines. Press Med. 2001, Vol. 30 ; pp 1076 – 1081.

Références bibliographiques

- **Li J-W., Ding Sh-d. et Ding X-l.** (2007). Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*. 80: 176-183.

M

- **Macheix ,J.. (2005).** les composés phénoliques des végétaux : un exemple des métabolismes secondaires d'une importance économique (éd. universitaire Romandes) Lausanne
- **Manach, C., Mazur, A., Scalbert, A.** (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases *Current Opinion in Lipidology* 25-26. *La Végétation de la France, Suisse et Belgique*
- **MAURICE. N (1997).** Herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire duXXIe siècle. Ed.Lavoisier, Paris.p. 12-14.
- **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev* 52: 673-839
- **MIDOUN. T., 2011.,** Extraction Des Composés Phénoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique., Mémoire de Master: 53p.
- **Milan S.S.2011.** Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* l. extracts. *Journal of Science*. 33: 63-72.

N

- **NOVAK, L., BUZAS, G., MINKER, E., KOLFAL, M., SZENDREI, K.**(1966). *Planta med* 14, p57.

O

- **O'Kennedy R,** Thomes R D, éditeurs. *Coumarins : biology, applications and mode of action.* New York, NY : John Wiley & Sons, Inc ; 1997.

P

Références bibliographiques

- **PARIS. M, HURABIELLE., 1981.**, Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie., Tome 1., Ed Masson., Paris.102-103-104-107
- **Paris R.R., Moyse H., 1976.** Matière Médicale. Tome I. 2eme Ed : Masson, Paris. 406
- **Pastre J.O.C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydant dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse
- **Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., 2001.** Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.

Q

- **Quezel P., Santa, S. (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361-356 p

S

- **Sarni-Manchado, P., & cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Paris: Edition lavoisier
- **Seyoum, A., Asres, K., & El-Fiky, F. K. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070
- **Shimizu, H.(2004).**Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9) : 2072-2077. Sies, H. (1997).
- **Singleton, V L., Rossi, J A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16(3), 144-158
- **. Stalikas CD.** Extraction, Separation, and Detection Methods for Phenolic Acids and Flavonoids. *J Sep Sci.* 2007; 30(18): 3268–95p.

T

Références bibliographiques

- **Thanan, R., Oikawa, S.** Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.
- **TSAO R.**, 2010-Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2 : 1231-1246

W

- **Wichtl M., Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2 e Ed : TEC & DOC. Paris. pp. 1-364

X

- **Xia, E. Q., G. F. Deng, Y. J. Guo et H. B. Li (2011).** "Biological activities of polyphenols from grapes." *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): 622-646.

Z

- **Zhang, H., & Forman, H. J. (2012).** Glutathione synthesis and its role in redox signaling. In *Seminars in cell & developmental biology*. 23, 722-728.

éférences bibliographiques

