

الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de recherche scientifique
جامعة محمد بوقرة بومرداس
Université de M' Hamed Bougara Bumerdes



Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques d'une
plante médicinale locale *Mentha Rotundifolia* L.

Présenté par :

M^{elle} BENKADI Syhem

M^{elle} MEGHNI Hanane

Soutenu le 12/11/2020 devant le jury composé de :

M ^{me} Fazouane F.	Professeur	UMBB	Présidente
Mr Dahmani MM.	Maître de conférences B	UMBB	Examineur
Mr Boudjema K.	Maître de conférences A	UMBB	Promoteur
M ^{me} Halli L.	Magister	SAIDAL	Invitée

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons en premier lieu à remercier Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et le courage qu'il nous a donné pour suivre nos études.

*Nos sincères remerciements adressés à notre promoteur Mr **Boudjemaa K**, Maitre de conférences classe A à l'université de Boumerdes, pour honorer en acceptant de nous diriger et de nous aider tout au long de la réalisation de ce mémoire, aussi ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance.*

Nos remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury.

*A Mr **Dahmani MM**, Maitre de conférences classe B à l'université de Boumerdes pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*A Mme **Fazouane F**, Professeur à l'université de Boumerdes qui nous fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Sans oublier, nous tenons à remercier sincèrement Mme **Halli L** ; Cadre dans le Centre de Recherche et de Développement, SAIDAL (Alger), pour sa présence
Pour la même occasion, nous tenons à remercier l'équipe de laboratoire de biochimie appliquée pour leurs encouragements et orientations, ainsi que tous les enseignants de département de biologie qui ont contribué à notre formation universitaire*

Enfin, nous tenons de remercier tous ceux qui nous ont soutenu et encouragé de près ou de loin pendant la préparation de ce modeste travail.

Dédicaces



Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la
capacité d'écrire bout de rêve et de bonheur de lever mes mains
Vers le ciel et de dire ((ya kayoum))

Je Dédie ce modeste travail À

*Ma chère mère **HAMAZ Fatma** À la chose la plus précieuse
que j'ai, Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et
m'encourager. Mon Cher papa **BENKADI Amar** .*

*A leurs yeux, ma joie et leur joie dans ma vie, mes frères
Khaled et Nasreddine ,ma sœur **Ghania** et mon beau-frère
Hakim , sans oublier mon cher neveu **Imad** et toute ma
famille oncles et cousins .*

*À mes professeurs et enseignants qui ont suivi mes études et
tout au long de ma carrière académique.*

À mes collègues de l'université, et tous mes amis .

M^{elle} SYHEM

Dédicaces



Je Dédie ce modeste travail À

*Pour le chef-d'oeuvre merveilleux de Dieu qui est la lumière
de mes yeux dans ma vie et ta présence à mes côtés a toujours
été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*Ma chère mère. **AMARI Fatma** À la chose la plus précieuse
que j'ai, Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et
m'encourager. Mon Cher Père **MEGHNI ALI.***

*A leurs yeux, ma joie et leur joie dans ma vie, mes soeurs ,mes
frères aussi mes nièces et neveux*

*A Mon cher mari **Ibrahim** .*

*À mes professeurs et enseignants qui ont suivi mes études et
tout au long de ma carrière académique.*

À mes collègues de l'université, et tous mes amis .

M^{me} Hanane

Liste des abréviations

OMS : l'Organisation Mondiale de la Santé

ERO : les espèces réactives oxygénées

DO : Densité optique

Do_{ctrl} : Densité optique du contrôle négatif.

Do_{éch} : Densité optique de l'échantillon.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH

MS : Matière sèche

AG : Acide gallique

C : Catéchine

D : Dilution

Mg EAG/g MS : mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

Mg EC/g MS : mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche

Mg EQ/g MS : mg équivalent quercitine par gramme de matière sèche

Q : Quercitine

V : volume

MR : La plante *Mentha rotundifolia*

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des composés phénoliques	11
Tableau 2 : Différentes classes des flavonoïdes	15
Tableau 3 :Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait éthanolique	40
Tableau 4 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait de <i>Mentha rotundifolia</i> avec une concentration de 1mg/ml	42
Tableau 5 :Les valeurs d'IC ₅₀ de l'extrait	43

Liste des figures

Figure 01 : Photo des parties aériennes de la plante <i>Mentha rotundifolia</i>	7
Figure 02: Structure du noyau phénol	10
Figure 03: Biosynthèse des composés phénoliques par voie Shikimate	12
Figure04 : Acide benzoïque	13
Figure 05: Acide cinnamique	13
Figure 06: Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 07: Structure chimique des tannins hydrolysables	17
Figure 08: Structure chimique des tannins condensés	17
Figure 09: Structure d'une molécule de coumarine	18
Figure 10: Structure d'isoterpénoïde	18
Figure 11: Origine de production des différents radicaux oxygénés et d'espèces réactives d'oxygène	21
Figure12: Diagramme représente les différentes étapes de l'extraction et l'évaluation de l'activité antioxydante	30
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	32
Figure 14: Courbe d'étalonnage de quercitine	34
Figure 15: Courbe d'étalonnage de catéchine	35
Figure 16: Réduction du radical libre (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle)	36
Figure 17: Pourcentage d'inhibition de DPPH par vitamine C	42

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

***Introduction générale* 1**

Première partie : Synthèse bibliographique

I.1.Définition des plantes médicinales et aromatique.....	5
I.2.Généralité sur la famille de Lamiaceae	5
I.3. Plante étudiée (<i>Mentha rotundifolia</i>)	5
I.3.1. Généralité sur la Menthe	5
I.3.2. Présentation de la plante <i>Mentha rotundifolia</i>	6
I.3.3.Nomenclature.....	6
I.3.4.Description botanique.....	7
I.3.1.5.Habitat et origine	7
I.3.1.6.Classification botanique	7
I.3.1.7.Utilisation thérapeutique et emploi	8

Chapitre II : Métabolites secondaires

II.1- Généralité.....	10
II.2. Les polyphénols	10
II.2.1.Classification des polyphénols	10
II.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	11
II.2.2.a. La voie de Shikimate	12

II.2.2.b .La voie des phénylpropanoïdes.....	12
II.2.1.Acides phénoliques	13
II.2.1.a.Acide phénols dérivée d'acide benzoïque.....	13
II.2.1.b.Acide phénols dérivés d'acide cinnamique	13
II.2.2.Flavonoïdes	13
II.2.2.1.Structure chimique des flavonoïdes.....	14
II.2.2.2.Classification des flavonoïdes	14
II.2.2.3.Quelques propriétés des flavonoïdes	15
II.2.4.4.Activités biologiques des flavonoïdes	16
II.2.3.Tannins	16
II.2. 3.1.Classification des tannins	16
II.2.3.1.a.Tannins hydrolysables	16
II.2.3.1.b.Tannins condensés	17
II.2.4.Coumarines	17
II.3.Terpenoïdes (isoprénoides).....	18
II.4. Alcaloides.....	18

Chapitre III : Activité antioxydante

III.1. Activité antioxydante.....	20
III.2.l'oxydation et le stress oxydatif	20
III.2.1.oxydation	20
III.2.2.le stress oxydatif	20
III.3.Les radicaux libres et les antioxydants.....	20
III.3.1.Définition des radicaux libre	20
III.3.2.Implication pathologiques des espèces réactives	22
III.3.3.Les antioxydants	22
III.3.3.1.Définition	22

III.3.3.2.Classification des antioxydants	22
III.3.3.2.1.Antioxydants endogènes (enzymatiques et non enzymatique)	23
III.3.3.2.2.Antioxydants exogènes.....	24
III.3.3.3.évaluation de l'activité antioxydante in vitro	25

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel	30
I.1. Matériel non biologique	30
I.2.Matériel biologique	30
I.2.1.Matériel végétal	30
II. Méthodes	30
II.1.Préparation de la poudre végétale	31
II.2.Extraction solide-liquide (macération).....	31
II.3.Détermination du rendement d'extraction.....	31
II.4.Dosage des composés phénoliques	31
II.4.1.Dosage des polyphénols	31
II.4.2.Dosage des flavonoïdes	33
II.4.3.Dosage des tannins condensés	34
II.5.Evaluation de l'activité biologique (pouvoir antioxydant)	35
II.5.1.Méthode de piégeage du radical libre DPPH	35
II.5.1.1.Principe	35
II.5.1.2. Mode opératoire	36
II.5.1.3. Expression des résultats	36
II.5.2. Méthode d'ABTS	37
II.5.2.1.Mode opératoire	37

II.5.2.2.Expression des résultats	37
II.5.3.Détermination d'IC ₅₀	38

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1.Rendement d'extraction	40
II.2.Composés phénoliques	40
II.3.Evaluation de l'activité biologique	41
II.3.1.Evaluation de l'activité antioxydante	41
II.3.2.Détermination des IC ₅₀	42

Conclusion et perspectives	45
---	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature pour soulager et guérir des maladies (**Sanago, 2006**).

La phytothérapie est l'une des vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies. L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65 -80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Jiofack et al., 2009**).

La communauté scientifique ne cesse de mettre en évidence le rôle du processus oxydatif induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Les oxydants en question, sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte par la peroxydation des lipides des denrées alimentaires. Quel que soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides, d'où l'intérêt des recherches entreprises sur les antioxydants. En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches par l'exploitation des métabolites secondaires de façon générale et les polyphénols, particulièrement. Ces composés mis en évidence dans divers travaux s'avèrent doués de plusieurs propriétés biologiques ; antioxydantes, anti-inflammatoires et antiallergiques. Les plantes réputées par leurs utilisations en médecine traditionnelle, se présentent comme une source intéressante de ces métabolites constitués de plusieurs milliers de composés différents et dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique ou l'effet toxique (**Hostettmann et al, 1998**). Il est donc opportun de mettre en évidence les principes actifs de ces plantes afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action, et bien entendu leur effet secondaire sur la santé humaine.

A travers ce travail, nous nous sommes intéressés d'une part ; à l'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale locale connue par *Mentha rotundifolia*. Nous présentons en première partie une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires ainsi que l'activité antioxydante. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées durant le travail. Alors que la troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus avec leur discussion.

Première partie :

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Matière végétale

I.1. Les plantes médicinales et aromatique

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières ; décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties : racine, feuille et fleur (**Dutertre, 2011**). Ce sont des plantes importantes en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Les plantes aromatiques sont appliquées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire (**Bounihi, 2015**).

I.2. La famille de Lamiaceae

La famille Lamiaceae (Labiatae) est composée de 236 genres et 7136 espèces, et l'une des premières à être distinguées par les botanistes (**Pistrick, 2002 ; Alice et al., 2016**), ceci par la particularité de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en général, opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, les fleurs pentamères sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne (**Messaili, 1995 ; Meyer et al., 2004**).

La famille des Lamiaceae est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

I.3. Plante étudiée (*Mentha rotundifolia*)

I.3.1. Généralité sur la Menthe

La menthe fait partie de Genre « *Mentha* » appartient à la famille des labiées ou lamiacées qui est l'une des plus importantes dans le monde végétal, elle comporte plus de 200 genres et 3500 espèces. Originaire d'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les Menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents. Les menthes se sont diffusées sur tout le globe jusqu'en Amérique du nord, en Australie, et aussi au Japon (**Talahagcha, 2008**).

L'Algérie, de part sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives de la menthe (**Boukhatem, 2010**).

Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires d'origine hybride, qui les relie (**Benayad, 2008**). Elles sont représentées par 18 espèces et environ 11 hybrides, qui se subdivisent en sous-espèces, formes, variétés, sous variétés, cultivars et sélections (**Sutour, 2010**).

Les menthes se plaisent sur un sol léger et humide, aiment avoir leurs racines à l'ombre et leurs tiges au soleil. Ce sont généralement des herbes vivaces, sont toutes caractérisées par une tige carrée, des feuilles persistantes opposées et dentées, et des racines longs stolons qui se développent sous terre et donnent naissance à de nouveaux pieds un peu partout aux alentours, Leur étalement est sans fin. Très odoriférantes en raison de l'huile essentielle qu'elles contiennent. Elle atteint une hauteur variant de quelques centimètres à près d'un mètre, selon les espèces. En été, les fleurs regroupées en épis ronds ou allongés, de couleur lilas, blanche ou rose, attirent les abeilles (**Anton, 2005**).

Les feuilles et somites fleuries des menthes étaient utilisés dans des buts thérapeutiques au 16ème et 17ème siècle, Elle aurait des vertus digestives, carminatives, antiseptiques, toniques et stimulantes. Elle participerait à l'équilibre digestif et améliorerait le tonus général, actuellement elles sont employées dans plusieurs domaines.

Dans le domaine alimentaire : pour les préparations des crèmes, les chocolats, les bonbons, les Pâtes à mâcher, les desserts, etc.

En parfumerie et cosmétique, les produits à base de menthe ont connu un développement spectaculaire avec les pâtes dentifrices, bain de bouche, crèmes, rouges à lèvres, mousses à raser (**El Fadl, 2010**).

I.3.2. Présentation de la plante *Mentha rotundifolia*

Mentha rotundifolia dont le nom vernaculaire est « timarssat » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* (**Kokkini et Papageorgiou, 1988 ; Lorenzo et al., 2002**).

I.3.3. Nomenclature

Selon **Eberhard et al (2005)**, les noms communs sont :

- En français : Menthe odorante, Menthe simple
- En arabe : Domrane, Chachtron, Timijo.

I.3.4.Description botanique

Cette espèce est une plante vivace vigoureuse de 25 à 80 cm de hauteur. Elle ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses et ridées. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher ; comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle la pomme.

La tige typique des labiées, dresse couverte d'un duvet épais ; rhizome ramifié est à section carrée. Les feuilles sessiles, ovales à presque rondes, au plus 4,5 cm de long et 3 cm d'épaisseur de couleur vert vif et légèrement duveteuses. Les fleurs blanches ou mauves claires de 5mm de long sont rassemblées en épis terminant les rameaux (**Bézanger-Beauquesne ; 1986**) (**Figure 01**) .



Figure 1 : Photo des parties aériennes de la plante *Mentha rotundifolia* (**Seladji,2015**)

I.3.1.5.Habitat et origine

La *Mentha rotundifolia* est une plante vivace que l'on trouve fréquemment au bord des chemins, dans les fossés ou autres lieux humides et inondés. Elle se rencontre dans toute la méditerranée sauf Chypre et l'Europe (**Haddouche,2010**).

I.3.1.6.Classification botanique

Selon **Quezel et Santa, (1963)** , la plante est classée comme suit :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Phanérogames
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous classe : Gamopétales
- Ordre :Lamiaceae
- Famille :Lamiaceae

- Genre :Mentha
- Espèce :*Mentha rotundifolia* L.

I.3.1.7.Utilisation thérapeutique et emploi

La *Mentha rotundifolia* possède des effets sédatifs, myorelaxants, anticonvulsivants et non toxique aux doses thérapeutiques, c'est ce qui ressort des travaux réalisés sur une batterie de tests utilisés en psychopharmacologie par des scientifiques **(Haddouche, 2010)**. Dans la pharmacopée traditionnelle, elle est utilisée comme analgésique en infusion, compression. Antiseptique en infusion (voies respiratoire et digestives) et bactéricides pour purifier l'eau. Elle est utilisée contre la grippe et le rhume, contre la nausée, contre les maux de dents, piqures d'insectes rafraichissant **(Brada et al., 2007)**.

En Algérie les feuilles et les tiges sont consommées généralement en décoction par voie orale contre les troubles et les coliques digestives, contre le vertige et le refroidissement et les feuilles séchées sont employées comme laxatif .Elle est également utilisée en culinaire dans les boissons (alcools, liqueur, sirop, vinaigre), les condimentaires (grillades, salade, accompagnement des viandes, des légumes), les desserts (accompagnement des fruits, glaces, aromatisé, les confitures), les sauces et les pains. Son feuillage frais ou sec est également utilisé pour aromatiser le thé **(Haddouche, 2010)**.

Chapitre II :

Les métabolites secondaire

II.1- Généralité

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides.

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

II.2. Les polyphénols

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Figure 02) (Hennebelle et al., 20

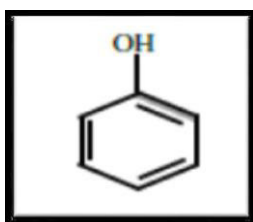


Figure 02 : Structure du noyau phénol (Achat, 2013).

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999 ; Tapiero et al, 2002). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

En effet, les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans la physiologie de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), dans les mécanismes de défenses de la plante (interactions biotiques et abiotiques) ou en codant la coloration des fleurs. Par ailleurs, ils sont bénéfiques pour l'homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Michel, 2011).

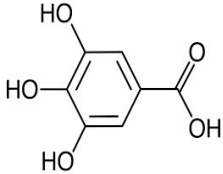
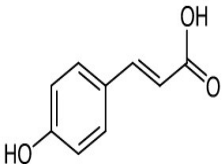
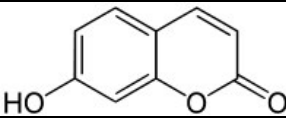
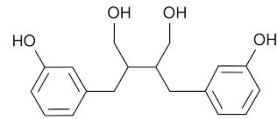
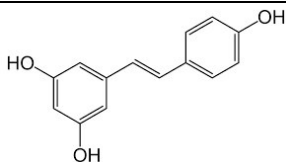
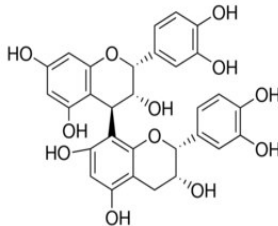
II.2.1. Classification des polyphénols

En se basant sur le nombre d'atomes de carbone dans un polyphénol et aussi le type de son squelette, différentes classes de polyphénols sont distinguées, parmi lesquelles sont citées les

catégories suivantes : acide phénolique, acétophénones, flavonoïdes, tannins, coumarines et anthocyanosides (**Belyagoubi, 2012**).

Le **tableau 01** présente certaines de ces classes avec leurs structures chimiques

Tableau 01 : Classification des composés phénoliques (Belyagoubi,2012)

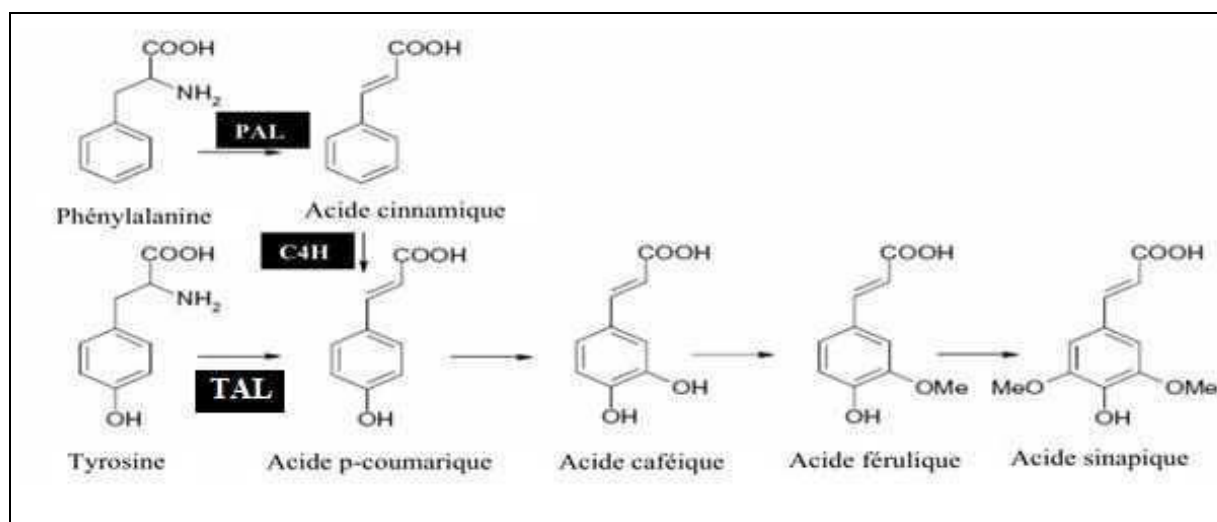
Classification des polyphénols	Squelettes	Exemple	Structure	Origine
Acide phénolique	C ₆ - C ₁	Acide gallique		Feuilles de thé
Acides hydroxycinnamiques	C ₆ - C ₃	Acide p-coumarique		Tomate , ail
Coumarines	C ₆ -C ₃	Omblliférone		Carrote
Lignanes	(C ₆ - C ₃) ₂	Entérodol		Lin
Stilbènes	C ₆ - C ₂ - C ₆	Resveratrol		Raisin
Flavonoïdes	C ₆ - C ₃ -C ₆	kaempférol		Fraise
Tannins	(C ₆ - C ₃ - C ₆) _n	Procyanidine		Raisins

II.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétique (voie de Shikimate et voie des phénylpropanoïdes).

II.2.2.a. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Laaboudi, 2012). L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique. Cette voie shikimate est à l'origine de la formation des acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) dont la désamination conduit à la formation des acides cinnamiques et *p*-coumarique et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïque, acétophénone, lignanes, lignines et coumarines (Bruneton, 1993). (Figure 03).



PAL : Phénylalanine Ammonia-Lyase ; C4H : Cinnamate 4-Hydroxylase ; TAL : Tyrosine Ammonia-Lyase.

Figure 03 : Biosynthèse des composés phénoliques par voie Shikimate (Crozier et al., 2006).

II.2.2.b .La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (Harrar, 2012). De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (Martin et Tsitohaina, 2002).

II.2.1.Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam, 1994). Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (Pandey et Rizvi, 2009).

Ils ont des effets antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire et chélateurs (Bruneton, 1999).

II.2.1.a.Acide phénols dérivée d'acide benzoïque

Ils sont des hydroxy-benzoïques et ont une structure générale de base de type (C₆-C₁) (Figure 04), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar, 2012). Les plus répandus sont : l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).

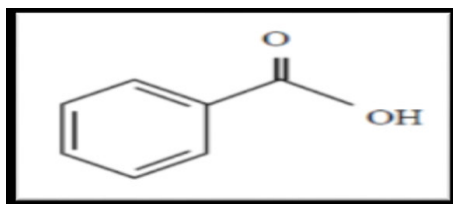


Figure 04 : Acide benzoïque (Pawlowska et *al.*, 2006).

II.2.1.b.Acide phénols dérivés d'acide cinnamique

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (Figure 05) sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994).

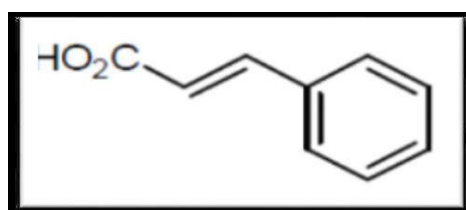


Figure 05 : Acide cinnamique (Gorham, 1977).

II.2.2.Flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) sont les principaux métabolites secondaires végétaux (Ralston et *al.*, 2005). Ils constituent un grand groupe de composés

phénoliques ayant une structure benzo- γ -pyrone et sont omniprésents dans les plantes. Ils sont synthétisés par voie des phénylpropanoïdes (Winkel-Shirle, 2000). Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Havsteen et al., 2002). Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits, et des feuilles (Nijveldt et al., 2001 ; Batra et Sharma, 2013).

Les flavonoïdes ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Harrar, 2012).

II.2.2.1. Structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C (Figure 06) (Erdman et al., 2007).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C₂-C₃, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yaol et al., 2004).

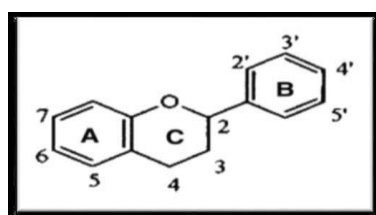
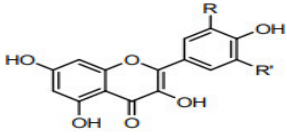
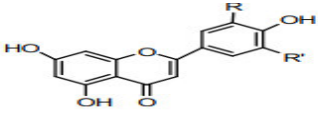
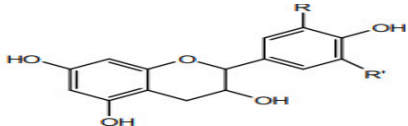
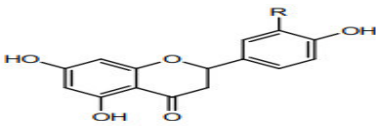
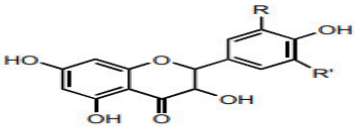
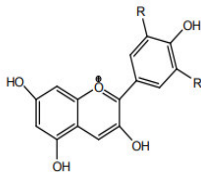
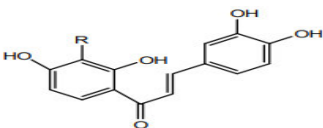
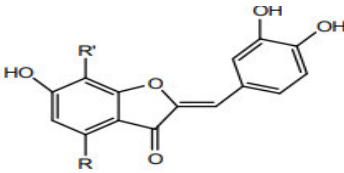


Figure06 : Structure de base des flavonoïdes (Erdman et al., 2007; Stefk, 2011).

II.2.2.2. Classification des flavonoïdes

Le tableau 02 présente les différentes classes des flavonoïdes

Tableau 02 : Différentes classes des flavonoïdes (Nkhili, 2009).

Flavonols  $R=R'=H$: Kaempférol $R=OH, R'=H$: Quercétine $R=OCH_3, R'=H$: Isorhamnétine $R=R'=OH$: Myricétine	Flavones  $R=R'=H$: Apigénine $R=OH, R'=H$: Lutéoline $R=R'=OCH_3$: Tricine
Flavan-3-ols  $R=R'=H$: Afzeléchine $R=OH, R'=H$: Catéchine $R=R'=OH$: Gallocatéchine	Flavanones  $R=H$: Naringénine $R=OH$: Eriodictyol
Flavanonols  $R=OH, R'=H$: Taxifoline $R=OH, R'=OH$: Ampéloptol	Anthocyanes  $R=R'=H$: Pélagonidine $R=OH, R'=H$: Cyanidine $R=OCH_3, R'=H$: Péonidine $R=R'=OH$: Délphinidine $R=R'=OCH_3$: Malvidine $R=OH, R'=OCH_3$: Pétunidine
Chalcones  $R=H$: Butéine $R=OH$: Okanine	Aurones  $R=R'=H$: Sulphorétine $R=OH, R'=H$: Aureusidine $R=H, R'=OCH_3$: Leptosidine

II.2.2.3. Quelques propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des Co-pigments. Peuvent moduler la distribution

d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agissent sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (**Harrar, 2012**).

II.2.4.4. Activités biologiques des flavonoïdes

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées comme agent antimicrobien. On leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Saffidine, 2015**).

II.2.3. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (**Makkar, 2003 ; Mangan, 1988 ; Mcsweeney et al., 2001**). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (**Khenaka, 2011**), Aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (**Haslam, 1998**). Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (**Ghestern et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (**Khanbabae et Ree, 2001**). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Rira, 2006**).

II.2. 3.1. Classification des tannins

II.2.3.1.a. Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase) pour donner des glucides et des acides phénoliques (**Figure 07**) (**Leinmüller et al., 1991**). Ils sont facilement scindés par les tannases en oses et en acide phénol. Selon la nature

de celui-ci, on distingue : les tannins galliques (Gallotanins) qui donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tannins ellagiques (Ellagitanins) qui sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle, 1981**).

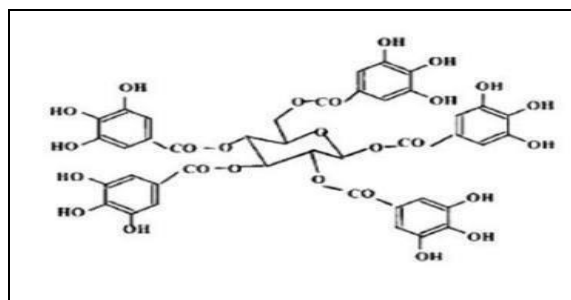


Figure07 : Structure chimique des tannins hydrolysables (**Antoine, 2008**).

II.2.3.1.b.Tannins condensés

Ce sont des tannins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tannins galliques (**Figure 08**), ils possèdent un squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (**Alilou, 2012**). Il est admis aujourd'hui que ces tannins sont constitués par un mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4- dioles).On peut les qualifier encore de tannins flavaniques (**Richter, 1993**).

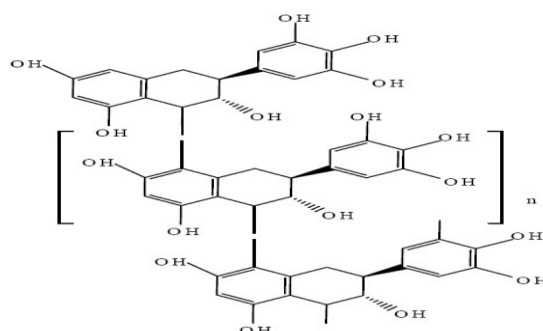


Figure 08 : Structure chimique des tannins condensés (**Macheix et al., 2006**).

II.2.4.Coumarines

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, elles sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2- hydroxy-7-cinnamiques (**Benayache, 2005**). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

La coumarine et ses dérivés ont des actions phytobiologiques (Hostettmann, 1992), bactériostatiques et antifongiques (Rufini et Sampaolo, 1977). Ils ont un effet antioedémateux (Hoult et Paya, 1996). (Figure 09)

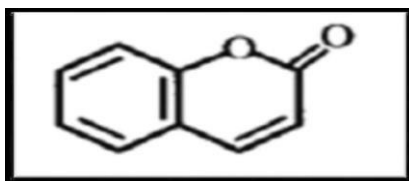


Figure 09 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

II.3.Terpenoïdes (isoprénoïdes)

Ce sont des hydrocarbures de structures très diverses (acycliques, monocyclique, bicyclique) constituant une chaîne plus ou moins longue. Les molécules de cette famille sont formées de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, unité composée de cinq carbones isopréniques de formule brute (C_5H_8) (Allenger et al, 1975).

Les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées (Antoine, 2008) (Figure 10).

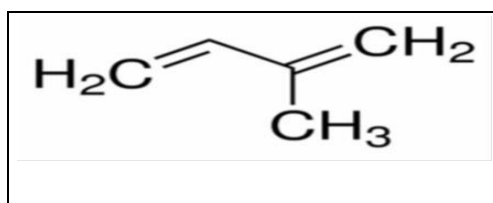


Figure 10 : Structure d'isoterpénoïde (Antoine, 2008).

II.4. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique). On les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

Chapitre III :

Activité antioxydante

III.1. Activité antioxydante

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement dans l'organisme (**Iserin, 2001**).

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiennes (**Bandonéon et al, 2000**).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Les antioxydants plus connus sont : la β carotéine (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le ricnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxylés phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\cdot$) ou super oxydes ($\text{O}_2^\cdot$) (**Bartosz, 2003**).

III.2. L'oxydation et le stress oxydatif

III.2.1. L'Oxydation

L'oxydation fait partie des réactions d'oxydoréduction qui transfèrent des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices (**Hamzaoui, 2010**).

III.2.2. Le stress oxydatif

Selon **Hamzaoui (2010)**, le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la génération des radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène / ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs.

III.3. Les radicaux libres et les antioxydants

III.3.1. Définition 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 de valence. On distingue des radicaux libres primaires à savoir : l'anion superoxyde ($\text{O}_2^\cdot$), le radical hydroxyl ($\text{OH}^\cdot$), le monoxyde d'azote ($\text{NO}^\cdot$) et les radicaux libres secondaires tels que l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), 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 avec l'élévation de la consommation d'oxygène (**Gauche et Hausswirth, 2006**). Plusieurs

mécanismes et systèmes responsables de la production des radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent (**Figure1**), parmi eux nous citons :

- Des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (**Aurausseau, 2002**) ;
- Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (**Milan, 2004 ; Van Antwerpen, 2006**)
- Du système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (**Li et al, 2002 ; Valko et al, 2004 ; Valko et al, 2006**) ;
- D'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la Pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (**Tamer, 2003**).

Certaines maladies génétiques causent une perturbation de radicaux libres ou une efficacité réduite du système de défense. Une surproduction de radicaux libres a été observée lors des maladies d'Alzheimer et de parkinson (**Delattre, 2005 ; Hamzaoui, 2010**).

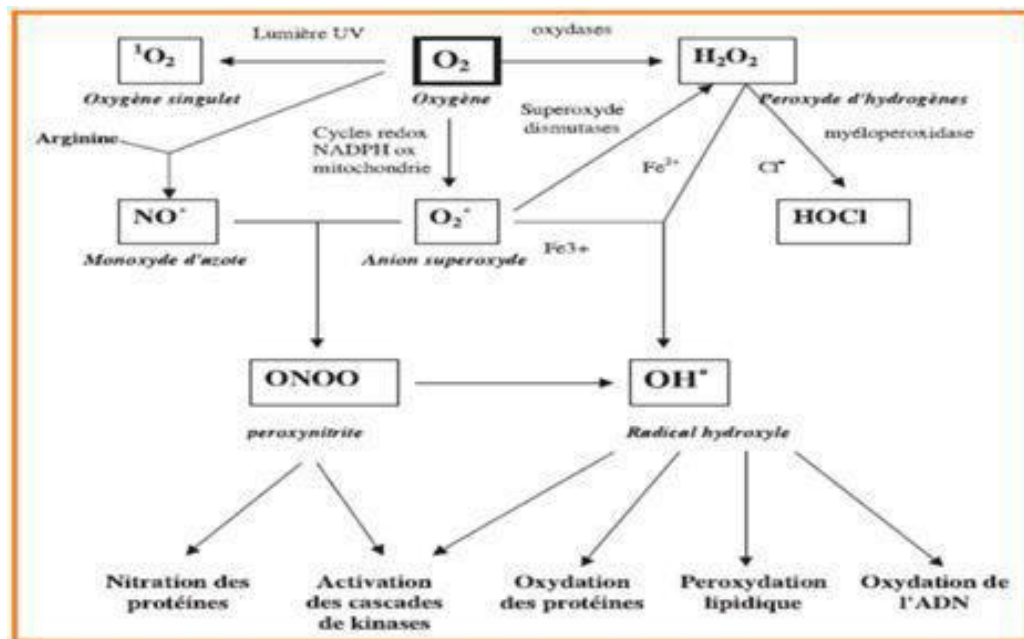


Figure 11 : Origine de production des différents radicaux oxygénés et d'espèces réactives d'oxygène (**Favier, 2003**)

III.3.2. Implications pathologiques des espèces réactives

L'interaction entre les des ERO avec les différentes molécules biologiques conduit à l'altération de l'homéostasie de l'organisme. Ceci fait que le stress oxydant intervient dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution.

De plus, la plupart des pathologies liées au stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des EOR (**Favier, 2003**).

***Principales affections liées au stress oxydant**

Le stress oxydatif provoque plusieurs pathologies à savoir : Maladies neurodégénératives : Alzheimer, Parkinson, épilepsie. (**Hwang, 2013**) ; Maladies du foie : fibrose, cirrhose, carcinome hépatocellulaire. (**Pizza et al, 2013**) ; Maladies cardiovasculaires : Athérosclérose, hypertension. (**Cardenas-Rodriguez, 2013**) ; Maladies respiratoires : bronchospasme aigu, emphysème, asthme. (**Shin et al, 2013**) ; Maladies auto-immunes : arthrite rhumatoïde. (**De Marchi et al, 2013**) ; Maladies de l'œil : la cataracte. (**De Marchi et al, 2013**) ; Diabète (**Kusano et Ferrari, 2008 ; Subedi et al., 2012**) ; Cancer (**Chakraborty et al, 2007**).

III.3.3. Les antioxydants

III.3.3.1. Définition

D'après **Helliwell (1994)**, un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration et qui est capable de prévenir et de retarder et aussi de réduire l'ampleur de la destruction oxydante de biomolécule.

III.3.3.2. Classification des antioxydants

Pour contrôler la production permanente entre des espèces réactives ; les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent des dommages de ces radicaux (**Rajesh et al, 2013**).

Ces antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont alors des antioxydants exogènes.

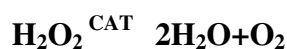
III.3.3.2.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques et non enzymatiques)

a. Antioxydants enzymatiques

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mikael et *al*, 2004).

***Catalase (CAT)**

D'après Valko et *al* (2006), la catalase est une enzyme localisée essentiellement dans les peroxysomes permet de convertir deux molécules de peroxyde d'hydrogène en dioxygène et molécule d'eau selon la réaction suivante :



***Superoxyde dismutase (SOD)**

Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde et en dioxygène comme suit :



GSH : Glutathion réduit

GS-SG : Disulfure de glutathion oxydé.

Il existe chez l'être humain trois isoformes de (SOD) à cofacteurs métalliques (Cu, Zn-SOD) ; (Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (Landais et *al*, 2005)

***Glutathium peroxydase (GPx)**

C'est une enzyme à cofacteur de sélénium se localisant dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité, la dégradation des peroxydes organiques en peroxyde d'hydrogène (Valko et *al*, 2006) selon la réaction au-dessous :



b-antioxydants non enzymatiques

Ce système comprend plusieurs molécules telles que le glutathion, l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (Ferritine, Transferrine, lactoferrine, céruloplasmine) (Savini et al, 2013). La liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique qui rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres.

III.3.3.2.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont largement utilisés dans les aliments comme aditifs dans le but de prévenir la rancidité. Ils sont des antioxydants non enzymatiques capables seulement de neutraliser un radical libre par molécule tel que : les vitamines C et E ; les caroténoïdes ; les composés phénoliques et les flavonoïdes (Svoboda et Hampson, 1999 ; Valko et al, 2006).

a. Vitamine E :

Plus de 50% de la vitamine E se trouve dans les tissus adipeux, le caractère hydrophobe de cette vitamine lui permet de s'insérer au sein des membranes biologiques riches en acides gras polyinsaturés, ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces réactives (Papadimitrakou, 2008 ; Yang et al, 2013).

b. Vitamine C

La vitamine C est essentielle pour l'homme, car elle a plusieurs fonctions comme un cofacteur enzymatique et un antioxydant (Kim et al, 2013).

c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH et peroxy RO₂. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. Les caroténoïdes peuvent aussi capter l'oxygène singulet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets (Gardes et al, 2003).

d. Polyphénols

Les polyphénols sont connus par leur activité antioxydante (**Zhu et al, 2012**), qui est due à la présence d'un nombre important de groupements hydroxyles phénoliques (**Hannan et al, 2012**). Les propriétés redox de ces composés leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs ,donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet .Certains montrent des propriétés chélatrices de métaux (**Proestos et al,2013**) et d'autres peuvent empêcher la production enzymatique des ERO telles que l'inhibition de cyclooxygénase ,lipoxygénase et cytochrome P450 (**Ferguson,2001**).De même ,augmenter l'expression des enzymes qui ont une activité antioxydante telles que la glutathion peroxydase ,la superoxyde dismutase, catalase (**Jayasena et al,2013**).

e. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants Sont utilisés dans l'industrie alimentaire afin d'éviter l'oxydation des lipides (**Olmedo et al, 2013**) et de conserver les aliments pour le stockage et le transport prolongé (**Olszewski et al, 2010**).

III.3.3.3. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro

A cause de la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises en évidence pour évaluer l'efficacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres, il existe deux groupes selon deux mécanismes :

*soit par le transfert d'atome d'hydrogène (HAT).

*soit par le transfert d'un simple électron (SET) (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang et al, 2005**).

Il faut se noter que ces deux réactions peuvent se produire en parallèle et qu'elles sont parfois difficiles à distinguer (**Prior et al, 2005**).

Les techniques du premier groupe (HAT) sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (**Sanchez-Moreno et Larrauri, 1998**).

Alors, les méthodes du deuxième groupe (SET) sont celles qui interviennent dans la mesure de L'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (OH), des anions

Superoxyde (O_2), du peroxyde (ROO) et de l'oxyde nitrique (NO) (Sanchez-Moreno, 2002)

Parmi ces techniques, nous citons :

*DPPH

L'activité antioxydant des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2'-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée photométrable à 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome d'hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphényle-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune-verte. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

*ABTS

La capacité antioxydant en équivalent Trolox (TEAC) ou le test de décoloration ABTS⁺. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical cationique ABTS⁺ (acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de coloration bleue-verte en ABTS incolore, par le transfert d'un électron singlet par l'antioxydant. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le dioxyde de manganèse (MnO_2) (Miller *et al*, 1996), la metmyoglobine (Miller *et al*, 1993), le peroxyde d'oxygène (H_2O_2) ; Cano *et al*, 2002) ou le persulfate de potassium (Re *et al*, 1999).

*FRAP

Le test de la réduction du fer est considéré comme un test direct et rapide. Il est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et déterminer l'activité antioxydant des extraits étudiés dans un milieu neutre (Oyaizu, 1986). Ce test est basé sur la réduction des ions $[Fe(CN)_6]^{3-}$ (Ferricyanure) à des ions de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ (ferrocyanure) qui donne en présence des ions Fe^{2+} une coloration bleu clair, mesurable à la longueur d'onde 700 nm.

*ORAC capacité du radical de l'oxygène

*DMPD balayage du radical cation N, N-diméthyle-phenyldiamine

*TOSC capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux

***TRAP** Paramètre de piégeage du radical total

***PCL** méthode photochimiluminescence.

Deuxième partie :

Etude expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie appliquée, Université de M'hamed Bougara (Boumerdes). Elle a pour but de faire l'extraction des composés phénoliques de la *Mentha Rotundifolia* et l'évaluation de son activité biologique (pouvoir antioxydant).

I. Matériel

I.1. Matériel non biologique

Les verreries, les appareillages et les solutions utilisés au cours de la réalisation de ce travail sont cités dans l'annexe 1.

I.2. Matériel biologique

I.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est la partie aérienne de la plante *Mentha rotundifolia* d'origine de Jijel qui a été identifiée au niveau de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomique (ENSA), Alger.

II. Méthodes

L'ensemble des méthodes et des étapes de notre démarche expérimentale sont résumées dans le diagramme suivant (Figure 12).

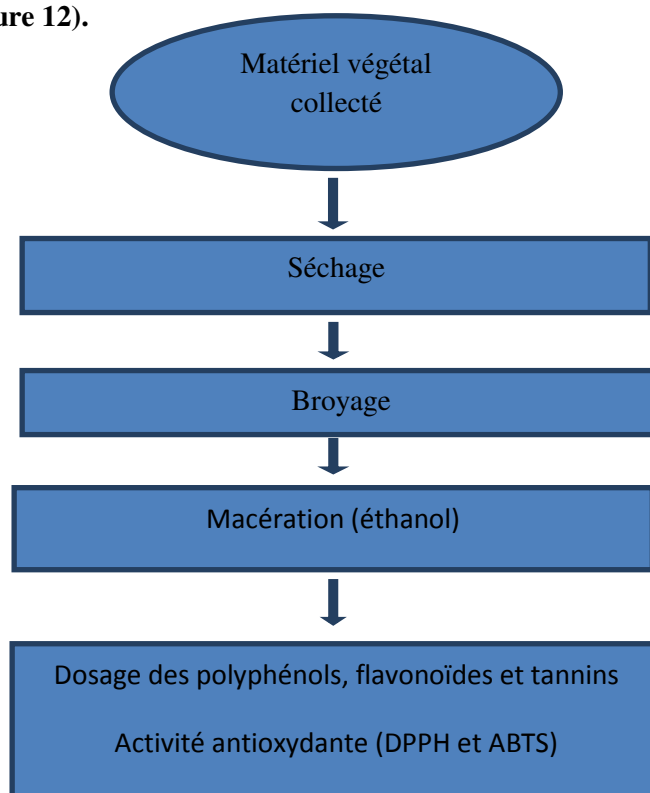


Figure12: Diagramme représente les différentes étapes de l'extraction et l'évaluation de l'activité antioxydante

II.1.Préparation de la poudre végétale

➤ Récolte

La plante *Mentha rotundifolia* a été récoltée durant le mois de mars 2019 dans la région de Jijel .

➤ Séchage

La plante fraîchement récoltée, est séchée naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ Broyage

Après séchage la plante est broyée dans un mixeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

II.2.Extraction solide-liquide (macération)

10 g de la poudre végétale a été mise à macérer dans un erlenmeyer contenant 100 ml d'éthanol.

Après agitation de 24 heures et filtration, le filtrat ainsi obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif puis conservé à 4°C dans des eppendorfs jusqu'à l'utilisation.

II.3.Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec et la masse de la matière végétale sèche (Falleh et al., 2008), il est exprimé en pourcentage par la formule suivante :

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \cdot 100$$

Où :

R : Rendement en % (g/g).

M_{ext} : Masse de l'extrait sec (g).

M_{éch} : Masse de la matière végétale sèche (g).

II.4.Dosage des composés phénoliques

II.4.1.Dosage des polyphénols

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972).

➤ Mode opératoire

Nous avons dissous 100 μ l d'échantillon dans 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 1/10) et 1 ml d'eau distillée. Les solutions ont été mélangées et incubées à une température ambiante pendant 1 min, puis on a ajouté 1500 μ l de solution de carbonate de sodium à 20% (Na_2CO_3).

Le mélange final a été agité puis incubé pendant 2 h à l'obscurité à une température ambiante. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre et les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme (g) du poids sec de la plante (Lisster et Wilson, 2001). Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant l'acide gallique comme standard, des concentrations différentes d'acide gallique ont été préparées et leurs absorbances ont été enregistrées à 760 nm (Figure 13).

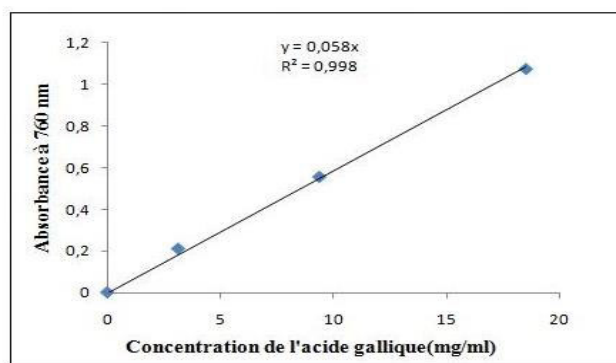


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .

➤ Expression des résultats

La teneur en polyphénols des échantillons analysés est calculée par la formule suivante :

$$C = c \cdot V / m$$

où :

C : Teneur en polyphénols (mg EAG/g d' extrait).

c : Concentration de l'extrait (mg /ml).

V : Volume du solvant utilisé pour faire l'extraction (ml).

m : Masse d'extrait sec (g).

$$C' = C / P$$

où :

C' = Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS).

.

C = Teneur en polyphénols (mg d'acide gallique/g d'extrait).

P = Poids de la matière sèche (g).

II.4.2.Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La teneur en flavonoïde a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant une méthode basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium ayant le maximum d'absorbance à 430 nm (**Benariba et al.,2013**).

➤ Mode opératoire

On a mélangé une quantité de 500 µl de chaque extrait avec 2 ml d'eau distillée et par la suite avec 0,15 ml d'une solution de nitrite de sodium NaNO₂ à 15%. Après 6 min à une température ambiante, on a ajouté 0,15 ml d'une solution d'AlCl₃ à 10%. Après 6 min d'incubation à une température ambiante, On a additionné au mélange 2 ml de la solution de NaOH à 4% en complétant le volume jusqu' à 5 ml avec l'eau distillée. Le mélange ainsi obtenu a été agité et incubé pendant 15 min puis l'absorbance a été mesurée à 510 nm (**Tefiani, 2015**).

Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) équivalent de quercétine (EQ) par gramme (g) de la matière végétale sèche (**Figure 14**)

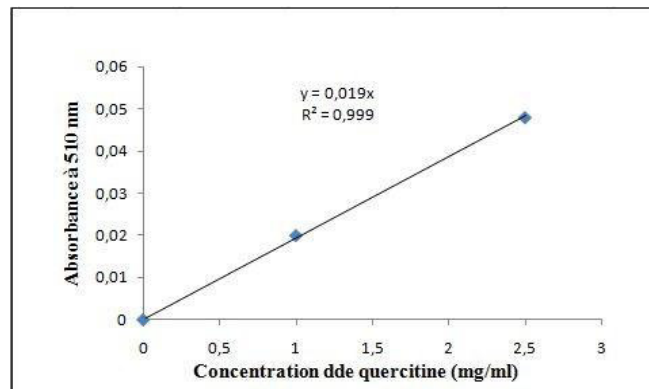


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de quercétine .

➤ **Expression des résultats**

La quantité des flavonoïdes de l'extrait étudié est calculée par la formule suivante:

$$C = (c. V)/m$$

Où :

C: Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g de MS).

c: Concentration de l'extrait (mg/ml).

V : Volume du solvant utilisé pour faire l'extraction (ml).

m : Masse d'extrait sec (g)

II.4.3.Dosage des tannins condensés

Principe

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide.

Mode opératoire

Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc (**Julkunen-Titto, 1985**). La concentration

des tannins est estimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EC/g de MS) à partir de la courbe d'étalonnage (**Figure 15**).

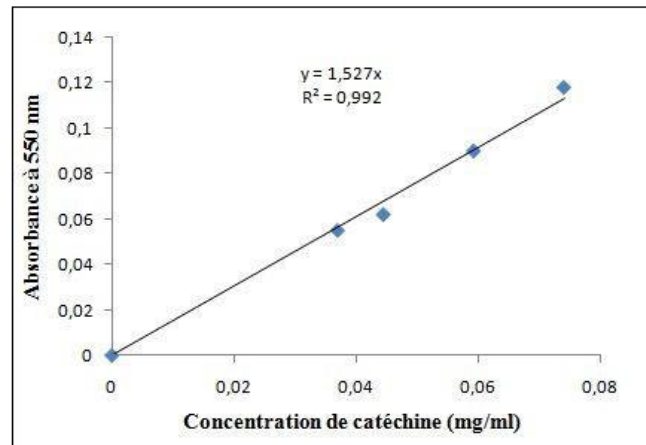


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de catéchine

Expression des résultats

La teneur des tannins condensés de l'extrait étudié est calculée par la formule suivante:

$$C = (c \cdot V)/m$$

Où :

C: Teneur en tannins condensés (mg EC/g de MS).

c: Concentration de l'extrait (mg/ml).

V : Volume du solvant utilisé pour faire l'extraction (ml).

m : Masse d'extrait sec (g).

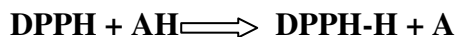
II.5.Evaluation de l'activité biologique (pouvoir antioxydant)

II.5.1.Méthode de piégeage du radical libre DPPH

II.5.1.1.Principe

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) , permet de mesurer le pouvoir réducteur

par le calcul de la IC₅₀ des substances anti oxydantes contenues dans un extrait .Au cours de ce test, ce radical DPPH de couleur violette devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺. selon l'équation suivante :



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Molyneux, 2004) (Figure 16).

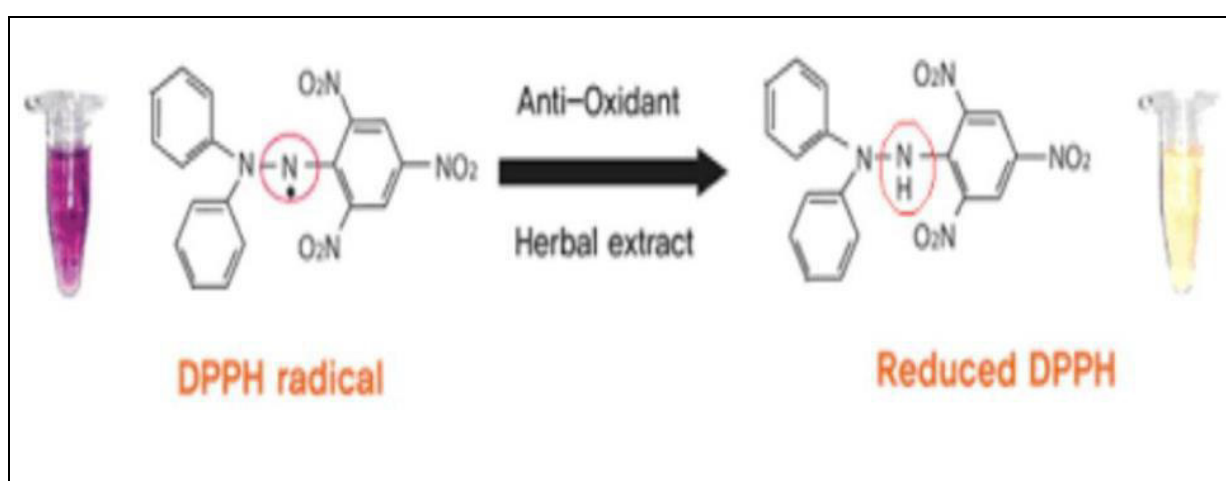


Figure 16: Réduction du radical libre (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle) (Boubekri, 2014).

II.5.1.2. Mode opératoire

50 µl de chaque extrait à différents concentrations sont ajoutés à 1950 µl de la solution du DPPH préalablement préparée dans l'éthanol. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé dans l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre contre le blanc qui est constitué de 2 ml de DPPH (contrôle négatif).

Une courbe d'étalonnage a été établie dans les mêmes conditions en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif (antioxydant standard).

II.5.1.3. Expression des résultats

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Do \text{ ctrl} - Do \text{ éch}) / Do \text{ ctrl}] \cdot 100$$

Où :

Do ctrl : Densité optique du contrôle négatif.

Do éch : Densité optique de l'échantillon.

II.5.2. Méthode d'ABTS

Principe

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 - éthylbenzothiazoline - 6- sulfonique acide) (MEDJOUJDA, 2012) .

II.5.2.1.Mode opératoire

D'abord, l'ABTS et le potassium ont été dissous dans l'eau distillée pour former la solution aqueuse ABTS dont les concentrations finales sont de 7mM et 2,45mM respectivement, on a laissé les solutions colorées dans l'obscurité à la température ambiante (25°C) pendant 12 à 16 h avant l'utilisation afin de générer un radical ABTS. Enfin, la solution ABTS a été diluée avec l'éthanol, pour ajuster l'absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734nm. Une solution de trolox (2,5mM) a été préparée dans l'éthanol .

II.5.2.2.Expression des résultats

La capacité de balayage de l'échantillon a été exprimée en pourcentage en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition ABTS} = [(A \text{ blank} - A \text{ éch})/A$$

Où :

A_{blank} est l'absorbance du blank contenant uniquement une solution ABTS⁺.

A_{ech} est l'absorbance de la solution ABTS⁺ après l'addition à l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage standard a été construite avec différents concentrations du trolox .

la CA a été exprimée en mM trolox (trolox équivalent antioxydant capacity, TEAC).

II.5.3.Détermination d'IC₅₀

La valeur IC₅₀ est la concentration qui assure la réduction de 50 % du DPPH ou ABTS .Elle est déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (**Samarth et al., 2008**).

Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

L'extraction des composés phénoliques de la plante étudiée a été réalisée par un seul solvant qui est l'éthanol, dont le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de la plante. Ces composés jouent un rôle très important comme agents thérapeutiques antioxydants dans le traitement des maladies humaines et les cancers (Moldovan et al, 2014) .

Dans notre étude, l'extraction par macération a donné un rendement égal $7,01 \pm 0,05 \%$.Ce résultat est en désagrément avec celui trouvé par Rababah (2015) qui a étudié l'extrait éthanolique de *Mentha rotundifolia* provenant de la région de Bejaia où il a enregistré une valeur de $14,6 \%$. De même, ce rendement est inférieur à celui rapporté par Bouhris et al (2016) qui ont révélé une valeur de $11,58 \%$ pour l'extrait méthanoïque de la plante étudiée récoltée dans la région de Jijel Par contre, il est approximativement identique à celui enregistré par Brahmi et al (2015) qui a travaillé sur l'extrait méthanolique de la même espèce récoltée dans la région de Bejaia. D'après ces résultats, nous constatons que le rendement d'extraction des composés phénoliques varie d'une région à l'autre et d'un extrait à l'autre, cette différence pourrait être due à la nature du solvant utilisé. El Oualilalami et al., (2013), ont attribué cette variabilité à de nombreux facteurs tels que les caractéristiques physicochimiques et la composition chimique de l'espèce, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturelles et l'âge du matériel végétal.

II.2. Composés phénoliques de la plante *Mentha rotundifolia*

Les résultats de la teneur en composés phénoliques sont représentés dans le **tableau 03**

Tableau 03 : Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait éthanolique

Plante	Teneurs en composés phénoliques (mg EAG /g MS)		
	Extrait éthanolique		
<i>Mentha rotundifolia</i>	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg QEg MS)	Tannins condensés (mg EAG/g MS)
	$14,04 \pm 1,52$	$13,10 \pm 0,22$	$9,31 \pm 0,91$

Selon le **tableau 03**, il apparaît clairement que l'extrait éthanolique de *Mentha rotundifolia* est riche en composés phénoliques à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tannins qui prennent respectivement les valeurs des concentrations suivantes : $14,04 \pm 1,52$ mg EAG /g MS et $13,10 \pm 0,22$ mg QE /g MS et $9,31 \pm 0,91$ mg EAG /g MS.

Nous observons que la valeur enregistrée en composés phénoliques est inférieure à celle rapportée par **Moldovan et al (2014)** qui a signalé une valeur de 97,8mg EAG/g MS sur l'extrait éthanolique de la même espèce d'origine de la Roumanie. De même, elle est inférieure à celle trouvée en Jordanie par **Abuqatuseh L et al (2019)** qui a révélé une valeur de $20,56 \pm 1,27$ mg GAE /g de l'extrait méthanolique de la même plante. Nous notons aussi que notre résultat est en concordance à celui obtenu par **Ben Abdallah et al (2016)** qui ont travaillé sur l'extrait méthanolique à 80 % de *Mentha rotundifolia* récoltée dans la région de EL-Tarf.

Concernant les flavonoïdes, notre résultat est en désaccord à celui signalé par **Brahmi (2015)** qui a trouvé une valeur de $3,3 \pm 0,1$ EQ/g MS. De même, il est non compatible avec celui cité par **Seladji (2015)** qui a constaté des teneurs faibles en flavonoïdes pour les extraits méthanolique et aqueux de *Mentha rotundifolia* provenant de la Tunisie correspondant respectivement aux valeurs 2,09 mg EC/g MS et de $1,97 \pm 0,04$ mg EC/g MS .

Dans le cas des tannins, la valeur enregistrée durant notre travail est largement supérieure à celle obtenue par **Seladji (2015)** qui a trouvé des valeurs comprises entre 0,6 et 1,2 mg EAG /g MS pour l'extrait aqueux contre des valeurs variant de 1,1 au 1,5 mg EC /g MS pour l'extrait méthanolique.

A partir de cette comparaison, on peut conclure que la variabilité des teneurs en composés phénoliques chez l'extrait est due probablement à la composition de la plante et la polarité du solvant utilisé. Selon **Ncube et al., (2008)**, le rendement, la composition, ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait peut être influencé par plusieurs facteurs tels que le temps et la méthode d'extraction, la température polarité du solvant .

II.3. Evaluation de l'activité biologique

II.3.1. l'activité antioxydante

L'efficacité antioxydante peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres. Les résultats sont illustrés dans le **Tableau 04**.

Tableau 04 : Pourcentage d'inhibition en pourcentage de l'extrait de *Mentha rotundifolia* avec une concentration de 1mg/ml.

Plante	Pourcentage d'inhibition (%)	
	ABTS	DPPH
<i>Mentha rotundifolia</i>	47,09	43,5

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS par les composés phénoliques présentant dans l'extrait éthanolique de *Mentha rotundifolia* est de 47,09% tandis qu'il est de 43,5% pour le DPPH.

Selon tableau 4, les résultats montrent que l'extrait éthanolique présente une activité antiradicalaire variable contre les deux radicaux testés à une dose de 1mg/ml.

Ce résultat est différent à celui cité par **Behlali et Imedjdouben (2018)** qui ont évalué le pouvoir antioxydant des extraits méthanolique de la plante *Mentha rotundifolia* provenant de deux régions différentes qui sont Jijel et Bejaia où elles ont enregistré des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 76,8 % et de 59,81% pour les radicaux ABTS et DPPH respectivement. Ce faible pouvoir antioxydant pourrait être lié à la composition des composés phénoliques. **Brahmi et al (2015)** ont également remarqué la forte corrélation entre les composés phénoliques avec le piégeage du DPPH.

II.3.2. Détermination des IC₅₀

Les valeurs des IC₅₀ pour l'extrait éthanolique ainsi que le standard sont élucidées

Dans la **figure 17** et le **Tableau 05**

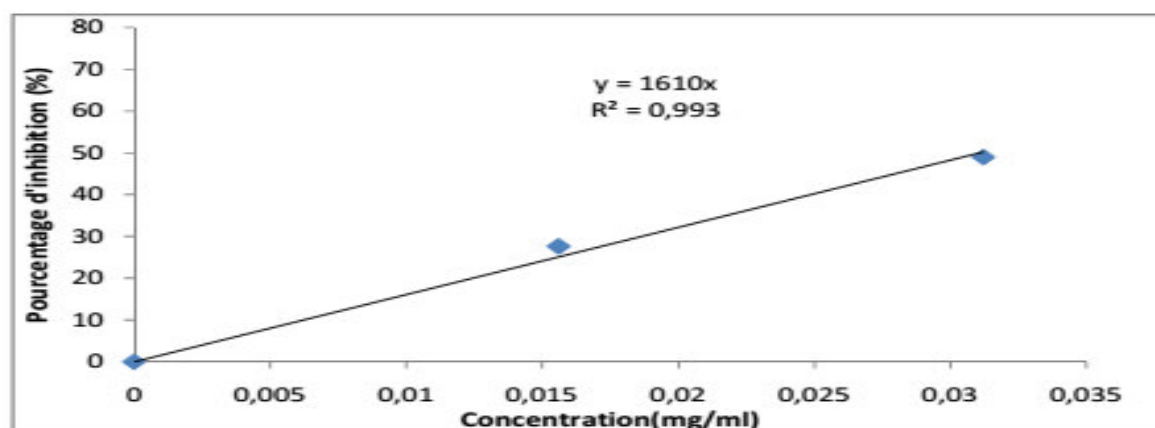


Figure 17: Pourcentage d'inhibition de DPPH par vitamine C.

Tableau 05 : Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait éthanolique

	IC ₅₀ (mg/ml)	IC ₅₀ (mM Eq Trolox/g MS)
Extrait éthanolique de <i>Mentha rotundifolia</i>	1,15	15,56
Vitamine C	0,031	-
Trolox	-	1,27

Ce paramètre est utilisé pour estimer l'activité antioxydante. Plus il est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (**Boumarfegue et al., 2012**). A partir de la **figure 17** et du **tableau 05**, il apparaît clairement que l'extrait éthanolique a présenté des valeurs d'IC₅₀ plus élevées par rapport aux standards utilisés. Elles sont de l'ordre de 1,15 (mg/ml) pour DPPH et 15,56 mM Eq Trolox/g MS pour ABTS, par contre la vitamine C a donné une valeur de 0,031 (mg/ml) pour DPPH et le trolox a donné une valeur de 1,27 mM Eq Trolox/g MS pour ABTS. Cela signifie que notre extrait présente une activité antioxydante cinq fois inférieure à celle de la vitamine C et dix fois inférieure à celle du trolox.

Ces résultats ont montré que l'extrait obtenu a une faible activité antioxydante par rapport aux résultats obtenus par **Nikavar et al (2008)** qui ont enregistré, sur l'extrait éthanolique de la plante *Mentha rotundifolia*, des valeurs d'IC₅₀ de 21,71 µg/ml pour DPPH et 158,90 µg/ml pour ABTS. De plus, notre extrait présente un faible effet inhibiteur par rapport au résultat obtenu par **Moldovan et al (2014)** qui ont révélé, sur l'extrait eau-éthanol (30/70) de la même espèce, des valeurs d'IC₅₀ égale à 104,74±1,76 µg/ml pour DPPH.

La variation des résultats d'un extrait à l'autre est due principalement à la différence de la nature des polyphénols car d'après **Dawidowicz et al (2006)**, l'activité scavenger du radical DPPH dépend de la structure des polyphénols, la présence d'hydrogène phénolique et le nombre de groupements donneurs d'hydrogène.

Conclusion

Ce travail a été mené dans le cadre de doser les composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique obtenu par macération des parties aériennes d'une plante médicinale locale *Mentha rotundifolia* L.

L'extraction éthanolique de la partie aérienne de la plante *Mentha rotundifolia* L. a permis d'obtenir un rendement de $7,01 \pm 0,05$ %.

En effet, l'analyse quantitative a révélé la richesse de l'extrait éthanolique en divers métabolites secondaires à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tannins. Toutes ces substances confèrent à cette plante des propriétés biologiques très importantes.

Les résultats de la présente étude, ont révélé aussi que l'extrait de *Mentha rotundifolia* L. présente une activité anti radicalaire variable vis-à-vis des radicaux DPPH et ABTS. Cette activité peut être expliquée par la richesse de cette plante en molécules antioxydantes comme les polyphénols qui sont à l'origine des bienfaits de la plante.

Dans le but de mieux valoriser cette plante, il serait intéressant de :

- Faire l'extraction par d'autres solvants tels que le méthanol, l'eau, acétone...etc ;
- Tester d'autres molécules telles que les huiles essentielles et les alcaloïdes ;
- Evaluer d'autres activités biologiques à savoir l'activité anti-inflammatoire et l'activité antimicrobienne.

Références bibliographiques

- Achat S ,2013.** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et avec des ions métalliques .Thèse de doctorat en science .Université Abderrahmane Mira, Bejaia, 211p.
- Alice T., Mariella L., Rita M., Haana M., Tania S., Paolo V., Anna M and Alberto P, 2016.** Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. *Industrial Crops and Products*, 83: 241-254.
- Alilou H, 2012.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes de Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC. Thèse de Doctorat en sciences. Université Ibn Zohr. Agadir, Maroc, 215p.
- Antoine C ., Danièle D, Marie-Anne C, Reynald B, Samira Dj, Marie G, Alexandra B, Laurent K et Michel M ,2010.** La méphédronne: une designer drug d'usage récent en France , *société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique* ,vol ; 65 (6) , 519–524.
- Anton R et Annelise L, 2005.**Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, lavoisier, édition Tec et Doc. Paris, 522p.
- Aurousseau, B. 2002.** Les radicaux libres dans l’organisme des animaux d’élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 15 (1): 67-82.
- Bartosz G, 2003 .** Gener ation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9(1) : 5-21.
- Batra P and Sharma A. K, 2013.** Anti-cancer potential of flavonoids: *Recent Trends and Future Perspectives*, 3(6): 439-459.
- Belyagoubi N, 2012.**Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l’Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse de Doctorat, Abou Beker Blkaid-Tlemcen, 109p.
- Benayache F, 2005.** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d’espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 199 p.
- Benayad N,2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées.Universitaire Mohammed V, Agdal,Maroc, 63p.
- Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M et Torck M, 1986.** Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, V 1, Editions Maloine, Paris, 469 p.
- Boizot N et Charpentier J.P, 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et

l'évaluation des milieux forestiers, partiels et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.

Boubekri C, 2014 . Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat ,université Mohamed Khider de Biskra, 160p.

Boudjouref M, 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister en biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Sétif, 64p.

Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F et Hakim Y ,2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et Technologie*, 3:37-45.

Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A et Lognay G ,2007. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(1) : 3-7 .

Brahmi F, Hauchard D, Guendouze N, Madani K, Martin Kiendrebeogo M, Kamagaju L, Stévigny C, Chibane M and Duez P, 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*, 74: 722-730.

Brahmi F , Dahmoune F , Kadri N, Chibane M, Dairi S, Remini H, Oukmanou-Bensidhoum S, Mouni L and Madani K, 2017. Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds *M. pulegium* L., extracted with different solvents, *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(4):1-9.

Bruneton, J, 1993. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, *American Journal of Pharmacological Sciences*, 5 :57-62 .

Bruneton, J, 1999. Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème Ed, Paris, 1120p

Cowan M. M, 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.

Delattre J., Beaudoux J .L et Bonnefont R., 2005. Radicaux libres et stress oxydant, Aspect biologiques et pathologiques. Édition Tec & Doc, Lavoisier. Paris, 548 p.

El Fadl A et Chtaina N ,2010. Etude de base sur la culture de la menthe au Maroc FAO. Programme Régional de lutte intégrée contre les organismes nuisibles au Proche Orient, 60 p.

El oualilalami A, El-akhal F, Ouedrhiri W, Ouazzani Chahdi F , Guemmouh R et

- Greche H , 2013.**Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgris* et *Thymus satureioidis* . *Les Technologie de laboratoire*, 8(31) : 27-33.
- Erdman, J.R. J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J. Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G and Burrowes J,2007.** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. *The Journal of Nutrition* *jn.nutrition.org*,137:718-737.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K , Karray-Bouraoui N.Trabelsi , M Boulaaba and C Abdely,2008.**Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 :372-397.
- Favier A, 2003.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 270 : 108-115.
- Gauche E et Hausswirth C,2006.** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*, 58 : 43-66.
- Ghestern A., Seguin E., Paris M et Orecchioni A.M, 2001.** Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris, 275p.
- Gorham, J, 1977.** Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Photochemistry*,16 :249-253.
- Halliwell B, 1994.** Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 344 (8924):721-724.
- Hamzaoui N (2010).** Etude de la composition chimique de l'Artemisia Herba-Alba poussant en Algérie. Thèse de Doctorat U.S.T.H.B.
- Harrar A.E.N,2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie,73 p.
- Haslam, E, 1994.** Natural polyphénols (vegetable tannins) : Gallique Acide métabolisme. *Natural Product Reports*, (11): 41-66.
- Hennebelle T., Sahpaz S et Bailleul F,2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*,1: 3-6.
- Hostettmann K,1992.** Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Ed. Zyma SA, Nyon. Switzerland, 25p.
- Hoult, J. R. S and Paya, M,1996.** Pharmacological and Biochemical actions of simple coumarine: Natural Products with Therapeutic potential. *General Pharmacology*,27:713-22.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.I. 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem*, 53: 1841-1856.

- Isérin P., Masson M et Kedellini, J.P, 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, Identifications, Préparations. Soins, Larousse, 336p.
- Jiofack T., Ayissi I., Fokunang C., Guedje N and Kemeuze V, 2009.** Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong Valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology* ,3 (4): 144-150.
- Kamra, D.N., Agarwal, N and Chaudhary, L.C. 2006** Inhibition of Ruminant Methanogenesis by Tropical Plants Containing Secondary Compounds. *International Congress Series*,1293: 156-163.
- Khanbabae, K et Ree, T.R,2001.** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*.18 : 641-649.
- Khenaka, K,2011.** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.
- King, A and Young, G. 1999** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*.99:213-218.
- Landis, G.N., Tower, J. (2005).** Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech. Ageing Dev.* 126: 365–379.
- Laurent K, Michel M ,2010.** La méphédronne: une designer drug d'usage récent en France ,*société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique* ,vol ; 65 (6) , 519–524.
- Leinmüller, E, Steingass, H and Menke, Kh. 1991** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*,19 :45–70.
- Li, C.Y., Jackson, R.M. (2002).** Reactive species mechanisms of cellular hypoxiare oxygenation injury. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol*, 282: C227–C241.
- Macheix J.J., Fleuriet A et Sarni-Manchado P., 2006** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 398p.
- Makkar, H.P.S. 2003** Effects and Fate of Tannins in Ruminant Animals, Adaptation to Tannins, And Strategies to Overcome Detrimental Effects of Feeding Tannin-Rich Feeds. *Small Ruminant Research*,49: 241-256.
- Mangan, J. L.1988** Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*,1: 209-231.
- Martin, S et Tsitohaina, R. 2002** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* , 51 : 304-315.

- Mcsweeney, C.S., Palmer, B., Mcneill, D.M and Krause, D.O.2001** Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*,91 : 83-93.
- Messaili, B. 1995** Botanique, systématique des spermaphytes. Ed OPU.Alger , 91p.
- Meyer, S., Reeb, C et Bosdeveix, R. 2004**Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Ed. Maloine, Paris, 462p.
- Michel, T. 2011** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat, Université d'Orléans, 286p.
- Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat en Sciences Domaine : Pharmacochimie*, Université Louis Pasteur Strasbourg I.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V and Milner, A. 1993**A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84: 407–412.
- Moldovan.RI , Oprean.R , Benede CD, Hanganu.D, Duma.M , Oniga.I, Vlase.L ,2014 ;** LC-MS analysis , antioxydant and antimicrobial activities for five species of mentha cultivated in Romania, *Journal of Nanomaterials and Biostructures*,9(2):559-566
- Molyneux.P, 2004.** The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Song klanakaran. *Journal of Sciences and Technologies* ,26 (2) ; 211-219.
- Nickavar B*, Alinaghi A, and Kamalinejad M.2008.** Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. *Iranian journal of pharmaceutical research*,7(3):205-207.
- Nijveldt, R. J., Nood, E. V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K and Leeuwen, P., 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition*, 74: 418-425.
- Nkhili, E-Z. 2009.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc, 327 p.
- Oyaizu, M. 1986.** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nutr*, 44: 307-315.
- Pandey, K.b and Rizvi, S.I. 2009.** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxydative Médecine and Cellular Longevity*, 2 (5) : 270 -278.

- Paris, M et Hurabielle M . 1981** .Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris,328 p.
- Pawlowska, A.M., De Leo, M and Braca, A. 2006.** Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,54 (26): 10234-10238.
- Pellegrini N., Proteggente A, Pannala A, Yang, M., Rice-Evans, C., .1999.**Antioxidant activity applying an improvised ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Pistrick, K., 2002.** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 211-225.
- Prior, R.I., WU, X.L., Schaich, K. 2005.** Standardisez methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric Food Chem*, 53 (10): 4290-4302.
- Quezel, P et Santa, S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome. 2, Ed, CNRS. Paris, 793p.
- Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M and Yu O. 2005.** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type II Chalcone Isomerases. *Plant Physiology*, 137(4): 1375-1388.
- Richter, G. 1993** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse,526 p.
- Rira, M., 2006.** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- Rufini, L and Sampaolo, G. 1977.** Plants Off. Aromi. Saponi. *Cosmétol. Aerosol*. 59:9-75.
- Saffidine, K. 2015.** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus Caeruleus* L. et de *Plantago Major* L. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbès, Sétif. 64p.
- Sanago R., 2006.**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci Food. Agric*, 76: 270–276.
- Seladji M., 2014.** Etude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. Thèse de Doctorat,

Université Abou Beker Blkaid-Tlemcen, 156p

Smarth R.M, Pnawar M, Soni A and Kumar M , 2008. Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract , *Food Chemistry* , 106 ;868-873.

Stefk M., 2011. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. *Interdisciplinary. Toxicology*, 4(2) 69-77.

Sutour. S ,2010 . Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, l'Université de Corse, 222p.

Talahagcha K et Kassa S ,2008. Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*. (menthe pouliot). D.E.S en biologie.

Tamer F, M.D. 2003. Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles. (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>).

Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen, B.G and Mathé, G. 2002. Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 56: 200-207

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem*, 266: 37–56.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M and Mazur, M. 2006. Free radicals, metals antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological Interactions*, 160: 1–40

Van Antwerpen, P. 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène / chlorure. *Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques*, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.

Winkel-Shirley, B. 2000. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 218-223.

Yaol, H., Jiangy, M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R and Chen, S.S. 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59: 113-122.

Yang, Y., Li, W.L., Gong, T., Wang, H.Q and Chen, R.Y. 2010. Studies on the chemical constituents of *Anabasis aphylla* L. *Yao Xue Xue Bao*, 45(12): 1523-1526.

Annexes

Annexe 1 : Réactifs, appareillages et verreries

Réactifs	Verreries	Equipements et appareils
Acide chlorhydrique concentré	Eprouvettes	Bain marie
Acide sulfurique concentré	Tubes à essai	Plaque chauffante
Propanol	Bishers	Balance
FeCl ₃	Entonnoirs	Spectrophotomètre
Mg	Spatules	Réfrigérateur
NaCl	Pipettes graduées	Chronomètre
NaOH	Erlenmeyer	Embouts pour les
Ammoniaque concentré	Fiole jaugée	Micropipettes
Acétate d'ammonium	Verre de montre	Etuve
Ethanol	Flacons en verre	Vortex
Chloroforme	Pince	Portoir
Anhydride d'acétate		Eppendorfs
Acide ascorbique		
DPPH		
Folin-Ciocalteu		
Carbonate de sodium		
Acide gallique		

الملخص

Mentha rotundifolia L. هو نبات ينتمي إلى عائلة Lamiaceae يأتي من منطقة جيجل ، ويتمثل عملنا من ناحية في استخلاص المركبات الفينولية بواسطة الإيثانول وكذلك تحديد كميتها ومن ناحية أخرى في تقييم النشاط البيولوجي (مضادات الأكسدة) للدراسة المستخلص بطريقتين (DPPH) . (ABTS) النقع الإيثانولي أعطى ناتج استخلاص يعادل $7.01 \pm 0.05\%$. أظهر المستخلص الذي تم الحصول عليه متوسط محتويات البوليفينول الكلي (14.04 ± 1.51 ملغ / EAG جم DM) ، الفلافونويدات (13.10 ± 3.69 ملغ / Eq غ DM) والعفص (9.31 ± 0.91 ملغ). بالإضافة إلى ذلك ، أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الإيثانولي نسبة تثبيط قدرها 47.09% DPPH و 43.5% ABTS تقابل على التوالي قيم IC₅₀ لـ 1 ، 15 ملغ / مل و 15.56 ملي مولار مكافئ ترولوكس /

Mentha rotundifolia L هو نبات غني بالمركبات الفينولية ويمثل قوة مهمة مضادة للأكسدة. الكلمات المفتاحية : *Mentha rotundifolia* L. : النقع ، المركبات الفينولية ، نشاط مضادات الأكسدة ، IC₅₀.

Résumé

Mentha rotundifolia L. est une plante appartient à la famille de Lamiaceae. Elle provient de la région de Jijel. Notre travail consiste d'une part à l'extraction des composés phénoliques par l'éthanol, ainsi que leurs dosage et d'autre part à l'évaluation de l'activité biologique (antioxydante) de l'extrait étudié par deux méthodes (DPPH et ABTS).

La macération éthanolique a donné un rendement d'extraction correspondant à $7,01 \pm 0,05\%$. L'extrait obtenu a présenté des teneurs moyens en polyphénols totaux ($14,04 \pm 1,51$ mg EAG/g MS), en flavonoïdes ($13,10 \pm 3,69$ mg Eq/g MS) et en tannins ($9,31 \pm 0,91$ mg EAG/g MS).

En outre, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique a révélé un pourcentage d'inhibition de $47,09\%$ pour le DPPH et $43,5\%$ pour l'ABTS correspondant respectivement à des valeurs d'IC₅₀ de $1,15$ mg/ml et de $15,56$ mM Eq Trolox/g MS.

Mentha rotundifolia est une plante riche en composés phénoliques et elle présente un pouvoir antioxydant important.

Mots clés : *Mentha rotundifolia* L., macération, composés phénoliques, activité Antioxydante, IC₅₀.

Abstract

Mentha rotundifolia L. is a plant belonging to the family of Lamiaceae. It is harvested from the region of Jijel. Our work consists on the one hand, in the extraction of phenolic compounds by ethanol, as well as their quantitative analysis and on the other hand, in the evaluation of the biological activity (antioxidant) of the studied extract by using two methods (DPPH and ABTS).

As result, the ethanolic maceration gave an extraction yield corresponding to $7.01 \pm 0.05\%$. The extract obtained exhibited average contents of total polyphenols (14.04 ± 1.51 mg EAG / g DW), of flavonoids (13.10 ± 3.69 mg Eq / g DW) and tanins (9.31 ± 0.91 mg EAG / g DW).

Moreover, the evaluation of the antioxidant activity of the ethanolic extract revealed a percentage inhibition of 47.09% for DPPH and 43.5% for ABTS corresponding respectively to IC₅₀ values of 1.15 mg / ml and 15.56 mM Eq Trolox / g DW.

Mentha rotundifolia is a plant rich in phenolic compounds and it presents an important antioxidant power.

Key words: *Mentha rotundifolia* L., maceration, phenolic compounds, Antioxidant activity, IC₅₀.