



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine** : SNV      **Filière** : Sciences Biologiques  
**Spécialité** : Biochimie Appliquée

**Présenté par :**

*ALIOUAT Karima & BOUDAUD Nadia*  
*Thème*

**Polyphénols de quelque plantes médicinales de la famille  
*Thymelaeacea* et *Cupressaceae* et l'étude leurs activité  
antioxydante.**

**Soutenu le :** 30/ 06 / 2018

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. BOURNIE Lamine</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. DJOUHRA FAHEM Djamilia</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mlle. BENMAIL Souhila</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

**Année Universitaire : 2017/2018**

## ***REMERCIEMENTS***

Nous tenons d'abord à remercier Dieu tout puissant qui à nous donner la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

On tient à remercier très sincèrement notre promotrice Mme DJOUHRA FAHEM D, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant cette recherche, pour leur infinie gentillesse, leur disponibilité constante et de mettre à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réussite de ce travail.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury :

M BOURNIE L, qui a nous fait l'honneur et l'immense plaisir de présider le jury de soutenance. Ainsi que, Mlle BENSMAIL S qui a accepté d'examiner ce travail .Veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et notre respect.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, par un geste, uneparole, ou un conseil, on leur dit merci.

Nous exprimons nos gratitudees à nos familles ALIOUAT et BOUDAOUUD pour leur soutien et leur confiance tout au long de ce travail.

# *Dédicaces*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux  
personnes les plus chères au  
Monde qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleurs  
conditions.*

*Et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.*

*Mes chers parents :*

*A ma très chère mère Fazia :*

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de  
prier pour moi*

*Et puisse Dieu , le tout puissant, te préserver t'accorder.*

*Santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père Rachid :*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation*

*Et mon bien être, ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis.*

*Pour mon éducation et ma formation.*

*A mes sœurs :Lynda,Hakima,Salsabile.*

*A mon frère :Mohammed Yahia.*

*A tous mes Ami(e)s :*

*Imen,Nadia,Souad,Sadia,Nassima, Sabiha.*



*Karima*

# *Dédicaces*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux  
personnes les plus chères au  
Monde qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleurs  
conditions.*

*Et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.*

*Mes chers parents :*

*A ma très chère mère Dalila :*

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de  
prier pour moi*

*Et puisse Dieu , le tout puissant, te préserver t'accorder.*

*Santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père Rabah :*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation  
Et mon bien être, ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis.*

*Pour mon éducation et ma formation.*

*A mes sœurs :Nabila, Meriem.*

*A mes frères :Mohamed Amine,Farouk,Merzak.*

*A mon mari MAZARI Mahdi ainsi que sa famille.*

*A tous mes Ami(e)s.*



*Nadia*

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</b>	
<b>I. Les plantes médicinales</b> .....	3
I.1 .L'utilisation des plantes médicinales .....	3
<b>I.2.La famille <i>Thymelaeaceae</i></b> .....	3
I.2.1.Distribution géographique .....	5
I.2.2.Classification systématique de la famille <i>Thymelaeaceae</i> .....	5
I.2.3.Description botanique des <i>Thymelaeaceae</i> .....	5
I.2.4.Propriétés chimiques.....	5
I.2.5.Propriétés thérapeutiques .....	5
I.2.6.Toxicité.....	6
<b>I.3.Présentation des plantes étudiées</b> .....	6
I.3.1. <i>Daphné gnidium</i> L .....	6
I.3.1.1.Position systématique.....	6
I.3.1.2.Nomenclature .....	6
I.3.2. <i>Thymelaea hirsuta</i> Endel .....	7
I.3.2.1.Position systématique .....	7
I.3.2.2.Nomenclature .....	7
<b>I.4.La famille <i>Cupressaceae</i></b> .....	8
I.4.1.Définition.....	8
I.4.2.Distribution géographique .....	8
I.4.3 .Classification systématique de la famille de <i>Cupressaceae</i> .....	9
I.4.4.Description botanique des <i>cupressaceae</i> .....	9
I.4.5.Propriétés chimiques.....	10
I.4.6.Propriétés thérapeutiques .....	10
<b>I.5. Présentation des plantes étudiées</b> .....	11
I.5.1. <i>Cupressus sempervirens</i> L .....	11
I.5.1.1.Position systématique .....	12
I.5.1.2.Nomenclature.....	12
I.5.2. <i>Juniperus communis</i> L .....	12
I.5.2.1.Position systématique.....	12

I.5.2.2.Nomenclature .....	12
<b>I.6.Composés phénoliques .....</b>	<b>13</b>
I.6.1. Définition des composés phénoliques .....	13
I.6.2.Utilisation et propriété biologique des polyphénols .....	13
I.6.3. Propriétés physicochimiques des polyphénols.....	13
I.6.4. Classification des composés phénoliques .....	14
I.6.4.1.Les formes les plus simples.....	14
I.6.4.2.Les formes les plus condensées .....	15
I.6.4.3.Biosynthèse des polyphénols .....	15
<b>I.7.Stress oxydatif .....</b>	<b>16</b>
I.7.1. Définition d'un radical libre .....	16
I.7.2. Conséquence du stress oxydatif .....	16
<b>I.8.Antioxydants .....</b>	<b>17</b>
I.8.1. Antioxydants enzymatiques .....	17
I.8.2. Antioxydants non enzymatiques .....	17
I.8.3. Les méthodes de tests de l'activité antioxydants .....	18
I.8.3.1.Le test d'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) .....	18
I.8.3.2.Le test du DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle) .....	18
I.8.3.3.Tests par chromatographie sur couche mince (CCM) .....	19
I.8.3.1.1. Réduction du radical diphenyl picrylhydrazyle .....	19
 <b><i>Chapitre II : Matériels et Méthodes</i></b>	
<b>II.Matériels.....</b>	<b>20</b>
<b>II.1.Matériel biologique .....</b>	<b>20</b>
II.1.1 .Préparation de l'échantillon végétal.....	21
II.1.2. Matériel non biologique .....	22
II.1.3.Caractéristiques des poudres obtenues.....	22
<b>II.2.Screening phytochimique .....</b>	<b>23</b>
II.2.1.Coumarines .....	23
II.2.2.Tanins.....	23
<b>II.3.Méthodes d'extraction des polyphénols .....</b>	<b>24</b>

II .3.1.Extraction par macération .....	24
II.3.2.Extraction par Soxhlet .....	25
<b>II.4.Analyse quantitative des extraits polyphénoliques .....</b>	<b>26</b>
II .4.1.Détermination des rendements en polyphénols .....	27
II.4.2.Dosage des polyphénols totaux .....	27
<b>II.5.Analyse qualitative des extraits polyphénoliques .....</b>	<b>28</b>
<b>II .6.Etude de l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques par Test DPPH (2.2 .Diphenyl 1 picrylhydrazyl).....</b>	<b>28</b>

### *Chapitre III : Résultat et discussion*

<b>III .1.Screening phytochimique .....</b>	<b>31</b>
<b>III.2.Rendement d'extraction des polyphénols des plantes.....</b>	<b>32</b>
<b>III.3.Dosage quantitative .....</b>	<b>33</b>
III.3.1.Dosage des polyphénols totaux .....	33
III.3.2.Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	37
<b>III.4.Etude de l'activité antioxydante .....</b>	<b>40</b>
III.4.1.La détermination de l'IC50 .....	43
<b>Conclusion.....</b>	<b>45</b>

### *perspectives*

### *Références Bibliographiques*

### *Annexes*

### *Résumé*

## **Liste des abréviations**

- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- UV** : Ultra-Violet.
- FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de Fer.
- NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- MeOH** : Méthanol.
- H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphomolybdique.
- H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub> O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungstique.
- Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : Oxyde molybdène.
- NaCo<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.
- DO** : Densité optique.
- EAG** : Equivalent Acide Gallique.
- IC 50** : Concentration Inhibitrice de 50%.
- RF** : Rapport frontale.
- CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).
- DPPH** : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

**Liste des Figures :**

<b>Figure 01 :</b> Carte de répartition géographique des <i>Thymelaeaceae</i> .....	4
<b>Figure 02 :</b> Photographie de la partie aérienne de <i>Daphné gnidium</i> L .....	7
<b>Figure 03 :</b> Photographie de la partie aérienne de <i>Thymelaea hirsuta</i> Ende.....	18
<b>Figure 04 :</b> Répartition des cyprès euro-asiatiques.....	9
<b>Figure 05 :</b> Photographie de la partie aérienne de <i>Cupressus sempervirens</i> L .....	11
<b>Figure 06 :</b> Photographie de la partie aérienne de <i>Juniperus communis</i> L.....	12
<b>Figure 07 :</b> Oxydation partielle de l'ABTS.....	18
<b>Figure 08 :</b> Forme libre et réduite du DPPH.....	19
<b>Figure 09 :</b> Les feuilles de chaque plante, <i>Thymelaea hirsuta</i> Endel ( <b>a</b> ), <i>Daphné gnidium</i> L ( <b>b</b> ), <i>Cupressus sempervirens</i> L ( <b>c</b> ), <i>Juniperus communis</i> L ( <b>d</b> ).....	20
<b>Figure 10 :</b> Carte géographique de la Wilaya de Bouira (Algérie), (Geurrouma et Djebahia) illustrant les régions de collecte.....	21
<b>Figure 11 :</b> Aspect des poudres des feuilles de <i>Daphné gnidium</i> L ( <b>a</b> ), <i>Cupressus sempervirens</i> L ( <b>b</b> ), <i>Juniperus communis</i> L ( <b>c</b> ), <i>Thymelaea hirsuta</i> Endel ( <b>d</b> ) .	23
<b>Figure 12 :</b> Les étapes d'extraction des polyphénols totaux par macération.....	25
<b>Figure 13 :</b> Appareil de Soxhlet.....	26
<b>Figure 14:</b> Structure et spectre d'absorbance UV/VIS du radical DPPH-H, et de sa forme réduite DPPH.....	29
<b>Figure15 :</b> Histogramme des rendements polyphénoliques.....	33
<b>Figure 16 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0,2mg /1ml).....	35
<b>Figure 17 :</b> Histogramme des Teneurs polyphénoliques totaux des extraits .....	35
<b>Figure 18 :</b> Chromatogrammes des CCM montrant des tâches de couleur différentes observées sous UV à 254 nm.....	38
<b>Figure 19:</b> Chromatogrammes des CCM montrant des tâches de couleur différentes	

observées sous UV à 365nm.....	38
<b>Figure 20</b> : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de <i>Daphné gniduum</i> L obtenu par macération et Soxhlet.....	40
<b>Figure 21</b> : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de <i>Thymelaea hirsuta</i> Endel obtenu par macération et Soxhlet .....	41
<b>Figure22</b> : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de <i>Cupressus Sempervirens</i> L .....	42
<b>Figure 23</b> : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de <i>Juniperus communis</i> L obtenu par macération et Soxhlet.....	42

**Liste des Tableaux :**

<b>Tableau I</b> : le matériel non biologique.....	22
<b>Tableau II</b> : Protocole de dosage des polyphénols.....	27
<b>Tableau III</b> : Les différents tests de criblage photochimique .....	31
<b>Tableau IV</b> : les mesures de rapport frontal (Rf) de la chromatographie sur couche mince.....	37
<b>Tableau V</b> : Activité antioxydante des extraits de plantes exprimés en d'IC50 DPPH ..	43

## Introduction

Depuis des milliers d'année, l'humanité a utilisée divers ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toute sorte de maladies. Actuellement l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 60 % des habitats de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base des plantes en tant que soins de santé primaire, ce chiffre peut atteindre 80% dans les cas des pays en développement (**Lee, 2004**).

L'Afrique sub-saharienne est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique, à laquelle s'ajoute une tradition ancienne d'utilisation des plantes (**Messai, 2011**).

Plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire, la limite thérapeutique des médicaments chimiques, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques (**Iserin, 2001 ; Mohammedi, 2013**).

En effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches. A titre indicatif, les polyphénols, un groupe très diversifié de molécules, dont plusieurs sont largement utilisées en thérapeutique comme antioxydants pour lutter contre les effets néfastes de l'oxygène à l'origine d'un grand nombre de maladies (**Bruneton, 2009**).

C'est dans ce contexte que rentre cette thématique qui a pour objectif d'utiliser deux méthodes d'extraction (macération et Soxhlet) afin étudier et valoriser les composés phénoliques de quatre plantes médicinales locales appartenant à deux grandes familles qui sont les *Thymelacées* et les *Cupressacées* (*Daphné gniduum* L et *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L et *Cupressus sempervirens* L), Ces plantes sont utilisés pour des propriétés anticancéreuses, antioxydante et pour le traitement de diabète (**Ghourri et al., 2013 ; Mohammedi, 2013**).

Nous avons subdivisé notre travail de recherche en deux parties :

- La première, est consacrée à une synthèse bibliographique sur les aspects botaniques et phytochimiques de chaque famille de plantes. Ainsi que des généralités, sur les activités antioxydantes, et sur les composés phénoliques.
- La deuxième partie a illustré le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes étapes de notre travail expérimental, notamment, le screening photochimique qui montre la présence de divers métabolites secondaires, le dosage des composés

phénoliques, une chromatographie sur couche mince et enfin une évaluation du pouvoir de chaque plante.

- Enfin une présentation et interprétation des résultats obtenus.

Notre manuscrit est clôturé par une conclusion générale.

## I .Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments). L'utilisation des plantes médicinales est ancienne que l'humanité elle-même, il existe de nombreuses preuves dans des documents écrits, des monuments conservés et même des médicaments à base de plantes (**Bendif, 2017**).

### I.1. L'utilisation des plantes médicinales

La conscience de l'utilisation des plantes médicinales est le résultat de nombreuses années de lutttes contre des maladies grâce auxquelles l'homme a appris à consommer des drogues dans les écorces, les graines, les fruits et d'autres parties des plantes, science a inclus dans la pharmacothérapie moderne une gamme de médicaments d'origine végétale connus par les civilisations anciennes et utilisés tout au long des millénaires (**Scimeca et téttau,2005**).

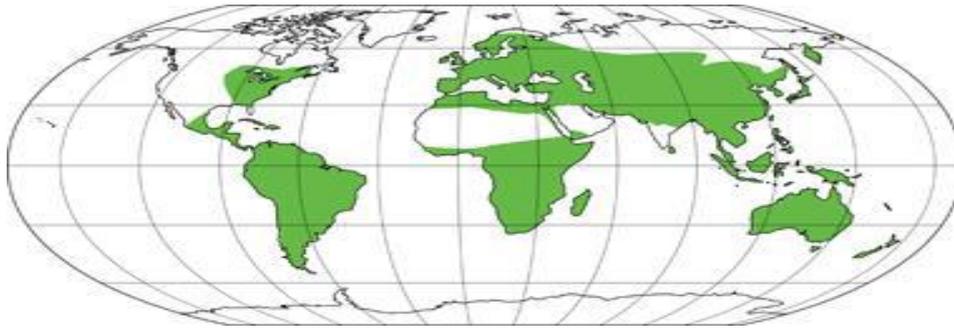
Ces plantes sont utilisées principalement dans les zones rurales par les personnes de troisièmes âges. Les grands types d'usages des plantes médicinales et aromatiques par l'homme sont cosmétiques (astringentes, adoucissantes, cicatrisantes, capillaires, pigmentaires, condimentaires (**Benhouhou, 2005**).

### I.2. La famille *Thymelaeaceae*

C'est une famille voisine de celle du Laurier et des Magnolias (**Fournier, 1999**). Les *Thymelaeaceae* sont des arbustes ou des plantes herbacées, dicotylédones. Cette famille comprend près de 500 espèces réparties en 44 genres, dont le plus intéressant est celui des Daphnés (**Dehimi , 2011**).

#### I.2.1 .Distribution géographique

Les membres de cette famille sont répandus surtout dans l'hémisphère sud et dans les climats tropicaux et tempérés voire dans les zones arides pour quelques espèces et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids. Les *Thymelaeaceae* représentent la famille la plus cosmopolite de l'ordre des malvales. On la rencontre en Afrique du sud, en Australie et en Europe et elle est abondante en région méditerranéenne (Figure 01) (**Mekhelfi, 2016**).



**Figure 01** : Carte de répartition géographique des *Thymelaeaceae* .Source (www.Horticol.com)

### I.2 .2. Classification systématique de la famille *Thymelaeaceae*

- **Règne** : Plantae.
- **Embranchement** : Spermatophyta.
- **Sous-embranchement** : Angiospermae.
- **Classe** : Eudicotyledonae.
- **Sous-Classe** : Rosidae.
- **Ordre** : Malvales.
- **Famille** : *Thymelaeaceae*.
- **Sous-Famille** : Thymelaeoideae.
- **Tribu** : Gnidiaceae.
- **Genre** : *Thymelaea* (Amari *et al.* (2014)).

### I.2.3. Description botanique des *Thymelaeaceae*

Les *Thymelaeaceae* sont principalement des arbustes, dicotylédones, à feuilles alternes ou opposées souvent coriaces et persistantes, inflorescences très variables. Fleurs hermaphrodites dioïques ou polygames, 4-5 mètres, à calice tubuleux. Les tiges renferment en général à l'intérieur du bois ou intercalé avec lui, les fibres sont abondants, périanthe à pièces soudées à la base ; souvent d'aspect corallin plus ou moins jaune ou verdâtre. Etamines 8-10 insérées sur deux rangs. Ovaire uniloculaire en général uniovulé. Fruit sec ou drupacé monosperme (Quezel *et al.* (1963)).

#### I.2.4. Propriétés chimiques

Plusieurs espèces de la famille des *Thymelaeaceae* contiennent, en diverses proportions, deux principes chimiques : la mézéréine, une substance résineuse d'un jaune brunâtre, de constitution encore inconnue, très vénéneuse, irritante, âcre, amère, drastique, vésicante et sternutatoire ; et la daphnine, un glucoside non vénéneux, à saveur amère, astringente (**Fournier, 1999**).

Des études sur des espèces du genre *Daphné* ont prouvé que ces plantes sont riches en coumarines comme la daphnetine et la daphnoretine et en flavonoïdes comme la quercétine et la lutéoline (**Deiana et al. (2003)**).

#### I.2.5 Propriétés thérapeutiques

L'antiquité utilisait déjà certaines propriétés médicinales des *Thymelaeaceae*. Les fruits du Garou, si répondeu dans les régions méditerranéennes, étaient utilisés comme évacuant, fondant, dépuratif, antiaphrodisiaque, purgatif, contre les douleurs ostéocopes nocturnes, contre des exostoses crâniennes extrêmement douloureuses, contre l'hydropisie, la scrofuleuse, le rhumatisme chronique, les maladies de peau, surtout d'origine vénérienne.

En plus, le Garou est resté dans la médecine populaire le médicament par excellence des affections syphilitiques.

Des enquêtes ethnobotaniques ont montré que *T. lythroides* est très utilisée dans la médecine

traditionnelle marocaine pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes. Il est traditionnellement utilisé en Tunisie comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension. Au Maroc, la partie aérienne de *T. hirsuta* est utilisée comme décoction dans le traitement du diabète.

Par contre, en Algérie, *T. hirsuta* Endl. Il est recommandé par les herboristes dans le traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma) (**Dohou et al, 2003**).

Les *Thymelaeaceae* ont des utilisations très variées dans l'industrie textile ; celle de la teinturerie et de la parfumerie, leur conférant une importance économique non négligeable dans les régions où elles poussent (**Mekhelfi, 2016**).

### I.2.6 Toxicité

La famille des *Thymelaeaceae* contient des plantes très vénéneuses. Quelques espèces renferment des esters de diterpènes : la daphnane et la tigliane qui sont responsables des propriétés irritantes de ces plantes (**Borris et al. (1988)**). La littérature médicale mentionne de nombreux empoisonnements dus à l'absorption de leurs fruits ou à l'emploi inconsidéré de leur écorce ou de leurs feuilles ; Il est même dangereux de tenir à la bouche un rameau fleuri, qui peut causer de graves inflammations de la bouche et de la cavité buccale. Des empoisonnements peuvent même suivre de simples applications externes, par suite de la résorption cutanée (**Fournier, 1999**).

## I.3 .Présentation des plantes étudiées

### I.3.1. *Daphné gnidium* L.

#### I.3.1.1. Position systématique

- **Règne** : Végétal
- **Embranchement** : Phanérogames.
- **Sous Embranchement** : Angiospermes.
- **Classe** : Eudicots.
- **Ordre** : Malvales.
- **Famille** : *Thymelaeaceae*.
- **Genre** : *Daphné*
- **Espèce** : *Daphné gnidium* L (**Chebili, 2017**).

#### I.3.1.2.Nomenclature

- **Nom français** : Garou, Daphné Garou, Thymèle, Saint Bois.
- **Nom anglais** : Flax-leaved Daphne.
- **Nom arabe** : Lazzaz (**Mohammedi, 2013**).



**Figure 02** : Photographie de la partie aérienne de *Daphné gnidium* L Source : ([www.telabotanica.org](http://www.telabotanica.org)).

### **I.3.2. *Thymelaea hirsuta* Endel.**

#### **I.3.2.1. Position systématique**

- **Règne** : Végétal.
- **Embranchement** : Phanérogames.
- **Sous Embranchement** : Angiospermes.
- **Classe** : Eudicots.
- **Ordre** : Malvales.
- **Famille** : *Thymelaeaceae*.
- **Genre** : *Thymelaea*.
- **Espèce**: *Thymelaea hirsuta* Endel (Mohammedi, 2013).

#### **I.3.2.2. Nomenclature**

- **Nom français** : Passerine hérissée, Passerine hirsute, Thymélée hirsute.
- **Nom anglais** : Hairy Thymelaea.
- **Nom arabe** : Mitnan, Metenan, Methnane, Matnan el akhdar. Zaytoun ardh.
- **Nom Latin**: *Thymelaea hirsuta* (L) Endl (Adouane, 2016).



**Figure 03** : Photographie de la partie aérienne de *Thymelaea hirsuta* Endel Source : ([www.telabotanica.org](http://www.telabotanica.org)).

#### **I .4 .La famille *Cupressaceae***

##### **I .4 .La famille *Cupressaceae***

###### **I .4.1. Définition**

La famille des *Cupressaceae* est une famille de plantes Gymnospermes qui renferme les plantes ligneuses, tels que les arbres et les arbustes. Ce terme Gymnosperme provient du grec (gymnospermos) signifiant (semence nue) (**Constance ,2010**). Les Cupressacées remplissent plusieurs rôles dans la nature, entre autres : écologiques (essence de protection et ornementale), économiques (production de bois, résines et huiles essentielles) (**Bouyahyaoui, 2016**).

###### **I .4.2 . Distribution géographique**

Les cupressacées représentent la famille la plus cosmopolite avec dix genres dans chaque hémisphère, mais la plupart des espèces se trouvent dans l'hémisphère nord (**Enright et al. (1996)**). Par ailleurs, la distribution de cette famille est sous l'influence de facteurs divers : climat, sol, perturbations (catastrophes naturelles, exploitation humaine) (**Banks, 2004**).

On trouve le genre cupressus dans l'hémisphère nord, principalement au niveau de la zone tempérée chaude son climat est plutôt continental type méditerranéen.

L'air naturel des cyprès est divisé en deux groupes bien distincts : le groupe américain et le groupe eurasien .dans le groupe américain, on trouve quelques espèces du genre cupressus qui sont les dernières vestiges du passé qui se trouvait en très grande quantité. Parmi les cupressus américains (*Cupressus arizonica*, *Cupressus globra*, *Cupressus*

*montana*).dans le groupe eurasien, on trouve quelques espèces répartis soit en chine, soit dans l'Himalaya ou encore en Méditerranée qui est la zone la plus répartis pour les cyprès. Parmi les cupressus eurasiens, on trouve certaines espèces (*Cupressus sempervirens*, *Cupressus funebris*, *Cupressus cashmeriana*) (Figure 04) (Constance,2010).



**Figure 04** : Répartition des cyprès euro-asiatiques (Pontoppidan, 2000).

#### I.4.3. Classification systématique de la famille de *Cupressaceae*

- **Règne** : Plantae.
- **Embranchement** : Gymnosperme.
- **Classe** : Conféropsidinées.
- **Ordre** : Cupressales.
- **Famille** : *Cupressacées*.
- **Sous-Famille** : Cupressoidées
- **Tribu** : Cupressées.
- **Genre** : *Cupressus* (Haluk et al.( 2000)).

#### I.4.4 .Description botanique des *Cupressaceae*

C'est une famille très ancienne, arborescente ou arbustive, Elle se caractérise par des rameaux longs et courts peu distincts et des feuilles en écusson ou aiguille, décussées ou verticillées, persistantes formant des surfaces écailleuses sur les rameaux, semblables à des tuiles imbriquées et produisant des petits cônes ligneux (2,5 à 4cm de diamètre), globuleux ressemblant à une tête de clou (à tête ronde). Les appareils reproducteurs des cupressacés sont

monoïques ou dioïques ou les deux. L'appareil reproducteur mâle est en petits cônes (fleurs) solitaires, le plus souvent terminaux, axillaires, entourés d'une enveloppe d'écailles communes. L'appareil reproducteur femelle est en cônes très réduits habituellement terminaux, ayant la structure fondamentale des autres conifères, mais très diverse dans les détails (Zerrouki, 2009).

#### I.4.5 Propriétés chimiques

Les espèces de la famille de cupressacées renferment des : huiles essentielles (0,2-1% dans les cônes, 2% dans les feuilles), monoterpènes (40-50%),  $\alpha$ -pinène, camphène,  $\beta$ -phellandrène, limonène,  $\alpha$ -terpinène, 3-carène ; sesquiterpènes : cadinène, alcools (terpinéol, bornéol, linalool, sabinol, cédrol), esters, acétate de terpenyl. – Acides diterpéniques, acide communiqué, acide sandracopimarique, acide imbricatolique, acide acétoxyimbricatolique (Haluk *et al.* (2000).

#### I.4.6 Propriétés thérapeutiques

Les feuilles sont utilisées, en décoction, comme hypoglycémiant, ont été recueillies bouillies dans du saindoux afin d'obtenir une solution utilisée par les Amérindiens pour soulager les douleurs articulaires et musculaires, le paludisme, la toux, la goutte et les rhumatismes. Elles sont utilisées feuilles pour les perturbations majeures suivantes tant l'irritabilité psychologique et physique, l'impatience forte, le pessimisme et l'anxiété, l'insomnie, des maux de tête, des taches de la peau et les taupes, les ongles cassants, prédisposition à varicose veines, transpiration accompagnée d'une odeur très forte, la sensibilité aux polypes, les infections et l'inflammation des voies urinaires (cystite), des douleurs abdominales et la constipation menstruel, les soins des cheveux (associée au Henné) (Lakhdar, 2015).

## I.5. Présentation des plantes étudiées

### I.5.1. *Cupressus sempervirens* L.

#### I.5.1.1 .Position systématique

- **Règne** : Plantae.
- **Embranchement** : Spermaphytes.
- **Sous Embranchement** : Gymnospermes.
- **Classe** : Pinopsida.
- **Ordre** : Pinales.
- **Famille** : *Cupressaceae*.
- **Sous-Famille** : Cupressoidées.
- **Tribu** : Cupressées.
- **Genre** : *Cupressus*.
- **Espèce** : *cupressus sempervirens* L (Nichane, 2015).

#### 5.1.2 .Nomenclature

- **Nom français** : le cyprès de Provence, le cyprès vert
- **Nom targui ou berbère** : Tiddi, Irz.
- **Nom arabe** : Ceroual, Carou , Bastana ( Beloud ,2005).



**Figure 05** : Photographie de la partie aérienne de *Cupressus sempervirens* L source : ([www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org)).

## I.5.2 *Juniperus communis* L .

### I.5.2.1. Position systématique

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Pinophyta
- **Classe** : Pinopsida
- **Ordre** : Pinales
- **Famille** : *Cupressaceae*
- **Genre** : *Juniperus*
- **Espèce** : *Juniperus communis* L (Haluk *et al.* (2000)).

### I.5.2.2. Nomenclature

- **Nom français** : Genévrier de Phénicie.
- **Nom anglais** : Juniper.
- **Nom arabe** : Taga.
- **Nom Latin**: *Juniperus communis* L (Beloud, 2012).



**Figure 06** : Photographie de la partie aérienne de *Juniperus communis* L source ([www.telabotanica.org](http://www.telabotanica.org)).

## I.6 .Composés phénoliques

### I.6.1. Définition des composés phénoliques

Les polyphénols ou les composés phénoliques constituent une des plus grandes familles de molécules organiques largement répandues dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Le terme polyphénol a été introduit en 1980 en remplacement au terme ancien de tanin végétal. Ce sont des métabolites secondaires des végétaux présents dans toute la partie de la plante, caractérisés comme l'indique le nom par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de hauts poids moléculaires (**peronny, 2005**) Les composés phénoliques forment le groupe des composés photochimiques le plus important, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois (**Bouزيد, 2009**).

### I.6.2. Utilisation et propriété biologique des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...). L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (**Padilla et al.( 2005)**).

Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Les composés phénoliques représentent un système de défense pour les plantes contre les micro-organismes pathogènes. Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, antiinflammatoires, antiradicalaires et antioxydants, analgésiques (**Bénard, 2009**).

### I .6.3 Propriétés physicochimiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton. Les deux propriétés fondamentales que partagent toutes les classes de polyphénols sont :

- ✓ Les propriétés réductrices qui sont à la base de la capacité de ces substances à piéger les espèces oxygénées (activité antioxydante) et de leur capacité à s'oxyder (**Sarni-Monchado et al .( 2006)**).

- ✓ Les propriétés complexantes : la complexation métallique des polyphénols est susceptible de limiter l'absorption intestinale des ions métallique d'importance biologique comme le fer (**Bruneton, 1999**).

#### **I.6.4 .Classification des composés phénoliques**

Plusieurs milliers des composés phénoliques ont été mise en évidence jusqu'à aujourd'hui. Ils ont tous en commun un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyle (**Sarni-Manchado et al.(2006)**).

Les composés phénoliques d'après (**Harbon ,1999**) et (**Macheix et al . (2005)**) peuvent être regroupés en de nombreuses classes, qui sont :

##### **I.6.4.1. Les formes les plus simples**

Les phénols les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C<sub>6</sub> aux flavonoïdes C<sub>15</sub> on distingue :

##### **I .6.4.1.1. Acide phénolique**

Qui se devise en :

- **Acides hydroxybenzoïques** : qui ont une formule de base de type C<sub>6</sub> – C<sub>1</sub>, ils sont présent sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent être intégrés dans des structures complexes comme les tanins.
- **Acides hydroxycinnamiques** : qui représentent une classe très importante, dont la structure de base est C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub>, ils existent sous forme d'ester avec le glucose (acide quinique et acide tartrique) ou sous forme de glucoside (**Sarni-Manchado et al, (2006)**).

##### **I.6.4.1.2 .Les flavonoïdes**

Ils représentent un groupe de plus de 6000 composés, ils comportent des pigments responsables des colorations jaunes, orange, rouges des différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**). Ils ont une structure en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) comportant deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène

Les flavonoïdes sont groupés en dix classes dont certaines ont une importance biologique et technologique comme, les anthocyanes, les flavanols, les Kaempférol, la quercétine.

À l'état naturel, on les trouve souvent sous forme de glucosides, les sucres les plus rencontrés sont le glucose et le rhamnose (**Erlund, 2002**) (voir l'annexe 01)

#### **I.6.4.2. Les formes les plus condensées**

Les formes les plus condensées de polyphénols sont représentées par les tanins et la lignine.

##### **I.6.4.2.1. Les tanins**

Ils sont des substances phénoliques de haut poids moléculaire, utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux vu leur capacité à se lier aux protéines et de les précipiter, ils ont une saveur amère et astringente due à la précipitation des protéines salivaires (**Guignard et al. (1985)**).

Ils peuvent parfois se lier aux alcaloïdes (**Paris et al. (1981)**) du point de vue chimique, les tanins peuvent être classés en :

- **Tanins hydrolysables** : qui peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique et donner une partie phénolique qui est l'acide gallique ou bien l'acide éllagique et une partie non phénolique (glucose, acide quinique) (**Sarni-Manchado et al. (2006)**).
- **Tanins Condensés** : qui sont des oligomères ou des polymères de flavone 3-ols, résistants à l'hydrolyse, et seules des attaques chimiques fortes pouvant les dégrader (traitement acide à chaud) (**Sarni-Manchado et al. (2006)**), ils se transforment en pigments rougeâtre suite à l'absence de sucre dans leur molécules (**Paris et al. (1981)**).

##### **I.6.4.2.2. La lignine**

La lignine est l'un des composés les plus abondant sur terre après la cellulose (**Bauer et al. (1992)**), elle constitue 15 à 35 % du bois des Angiospermes et des Gymnospermes et en raison de son caractère hydrophobe marqué, la lignine s'accumule au niveau des parois cellulaires (**Manchado et al. (2006)**).

#### **I.6.4.3. Biosynthèse des polyphénols**

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques : **la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate** (**Macheix et al. (2005)**).

#### **I.6.4.3.1. Voie de l'acide shikimique**

La voie la plus courante est celle qui, via le shikimate (l'acide shikimique) conduit des oses aux amino-acides aromatiques (Phe, Tyr et Trp) puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à des très nombreux dérivés, acides benzoïques, acétophénonés, lignanes et lignines, coumarines (**Heller et al. (2004 ; Brunton, 2009)**).

#### **I.6.4.3.2. Voie de l'acétate / malonate**

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**Akroum, 2010**) (voir l'annexe 01).

### **I.7. Stress oxydatif**

Le stress oxydant est un état qui résulte d'un des équilibres profonds au sein d'un individu- entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation des systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase...etc.), ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines ...etc.), qui aboutissent à l'apparition des espèces radicalaires. Une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants ainsi que les exercices physiques intenses contribuent également à l'apparition d'un stress oxydant (**Favier, 1997**).

#### **I.7.1. Définition d'un radical libre**

La formation des radicaux libres est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme dans le cas où l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres est maintenu. C'est le cas lors de la production d'énergie, des mécanismes immunitaires (lors d'infections bactériennes et virales), de l'amélioration du captage musculaire du glucose et à la reconstitution des stocks en glycogène musculaire (**Balon et al. (1994)**).

#### **I.7.2. Conséquence du stress oxydatif**

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout

l'organisme, accélérant le vieillissement, maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète et la dégradation des cellules et des tissus (**Bonnet, 2010**).

### **I.8. Antioxydants**

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (**Abdelli, 2017**).

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (**Boubekri, 2014**).

#### **I.8.1. Antioxydants enzymatiques**

Les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydant qui visent :

- À éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation ;
- À induire la synthèse des antioxydants ;
- À augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées (**Abdelli, 2017**).

#### **I.8.2. Antioxydants non enzymatiques**

Ces antioxydants sont naturellement présents dans les végétaux et les aliments ou incorporés à ceux-ci lors de leur fabrication. Ils sont définis comme étant des substances qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, protéger les cellules contre les réactions d'oxydation provoquées par les radicaux libres soit par la neutralisation de ces radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs, soit par l'élimination des composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation. Dans ce groupe d'antioxydants, on peut distinguer deux types : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes (**Ribeiro et al. ( 2001)**).

### I. 8.3. Les méthodes de tests de l'activité antioxydants

#### I. 8.3.1. Le test d'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS)

Le test ABTS ou Test TEAC (Trolox Équivalent Antioxydant Capacité) est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> (acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique). En milieu réactionnel le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de couleur verte bleue intense, généré par l'oxydation de l'ABTS avec un sel fort tel que le persulfate de potassium qui réagit avec un donneur d'hydrogene (H<sup>•</sup>) pour donner une forme non radicalaire et non colorée (Lien *et al.*(1999)).

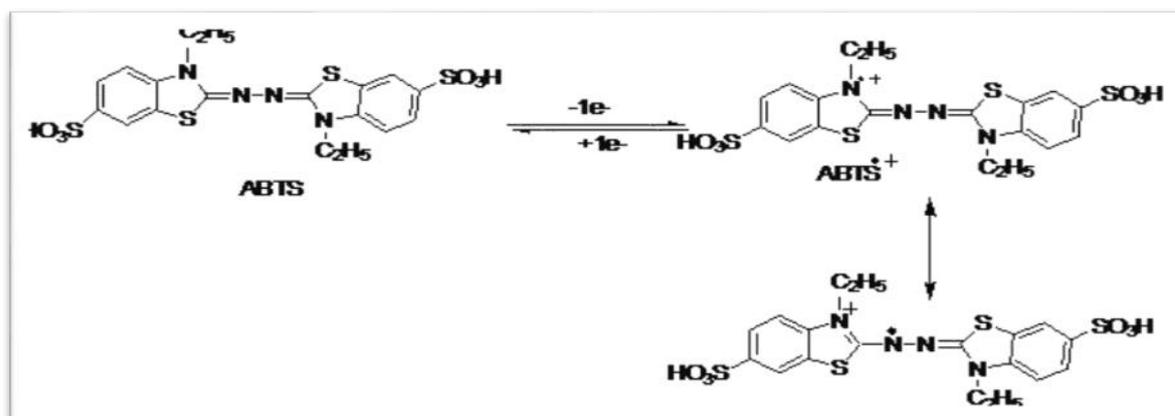


Figure 07 : Oxydation partielle de l'ABTS (Boutine, 2011).

L'activité antioxydant de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition.

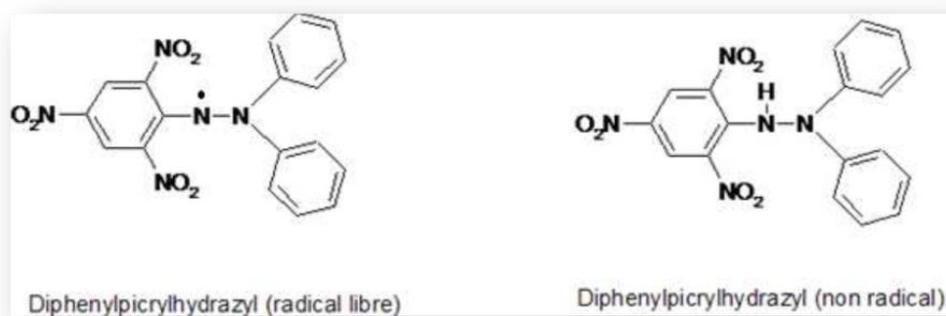
#### I.8.3.2. Le test du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle)

Les radicaux du 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl sont dissous dans du méthanol absolue, généralement à 0,004 % (P/V). L'extrait de plante ou l'antioxydant de référence est mis en contact avec la solution radicalaire de DPPH ; après incubation l'absorbance est lue à 515-517 nm. Les réactions qui se déroulent peuvent être de type :



L'activité antioxydant de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition.

Le radical libre stable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle (Salvi, 1998).



**Figure 08** : Forme libre et réduite du DPPH ( Molyneux, 2004).

### I.8.3.3. Tests par chromatographie sur couche mince (CCM)

#### I.8.3.3.1. Réduction du radical diphenyl picrylhydrazyle

Il s'agit de déposer des extraits, fractions ou produits purs à tester sur des plaques CCM de gel de silice en aluminium et développées dans le système approprié. Après séchage, gicler les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2mg/ml de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Des activités anti radicalaires apparaissent sous de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (Cavin, 1999).

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire du Biochimie appliquée du département de Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira et au niveau du laboratoire Maladies du palmier dattier et biochimie des plantes désertiques, Faculté de science USTHB durant la période de 4/04/2018 jusqu'au 30/05/2018.

## II .Matériels

### II.1. Matériel biologique

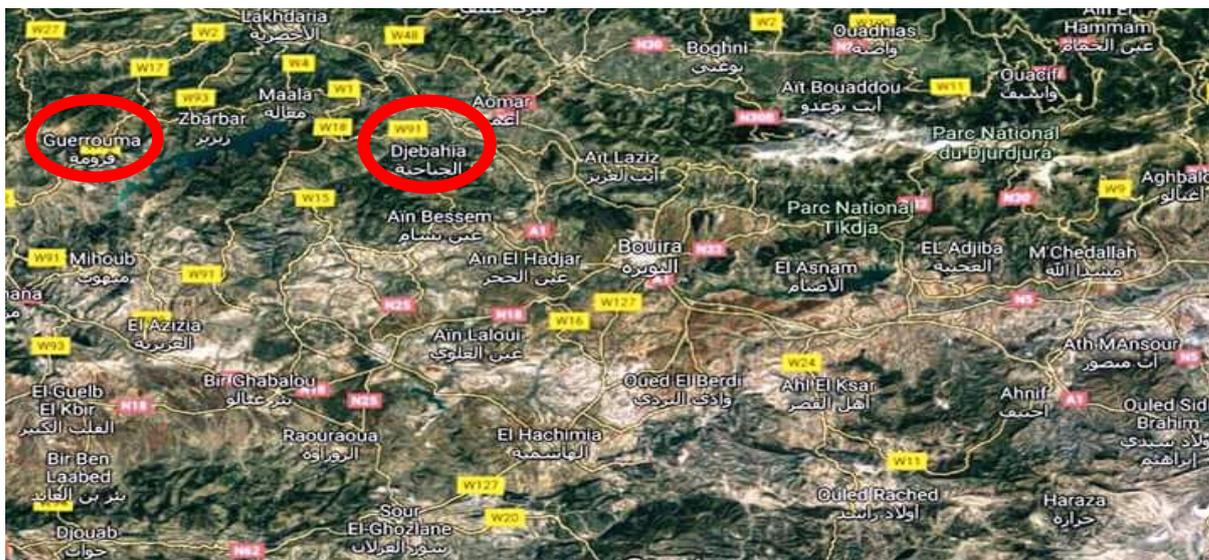
Le matériel végétal est constitué de feuilles de chaque plante (*Daphné gnidium* L, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Cupressus sempervirens* L , *Juniperus communis* L) .

Les plantes ont été collectées de différentes régions de la Wilaya de Bouira (Geurroumma et Djebahia) durant le mois de mars 2018.



**Figure 09** : Les feuilles de chaque plante, *Thymelaea hirsuta* Endel (a), *Daphné gnidium* L (b), *Cupressus sempervirens* L (c), *Juniperus communis* L (d).

Les deux régions de collecte sont indiquées sur la carte géographique de Bouira rapportée dans la Figure 10 :



**Figure 10 :** Carte géographique de la Wilaya de Bouira (Algérie), (Geurrouma et Djebahia) illustrant les régions de collecte.

- Altitude des zones de récolte : 657m pour Geurroumma, ainsi que 413m pour Djebahia de la wilaya de Bouira .
- Ces zones sont caractérisées par un climat méditerranéen avec un été chaud.

### II.1.1. Préparation de l'échantillon végétal

#### ➤ Le séchage

Les parties aériennes de chaque plante ont été séchées pendant 15 jours à l'abri de lumière et à température ambiante.

#### ➤ Le broyage

Pour augmenter la surface de contact solvant – échantillon, les plantes sont broyées en poudre dans un broyeur électrique.

#### ➤ La conservation

La poudre de la plante a été conservée dans des boîtes métalliques, à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### II.1.2. Matériel non biologique

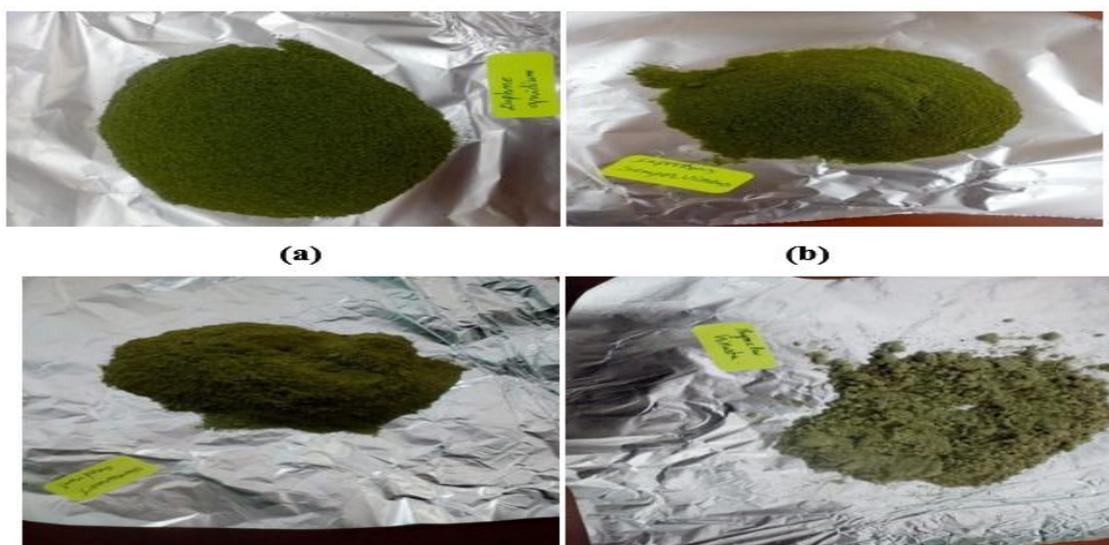
L'ensemble de matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau I :

**Tableau I** : Le Matériel non biologique utilisé:

Verreries et petit matériel	Appareils	Réactifs et produits chimiques
Béchers 250ml, 500ml, 1l, 2l.	Bain Marie (Nue Bath).	Carbonate de sodium.
Ampoules à décanter 250ml, 500ml.	Agitateur magnétique (Jlab Tech).	Acide gallique.
Fioles 250ml, 500ml.	Hotte chimique (cruma 670).	Méthanol.
Éprouvettes 10ml, 25ml, 50ml, 100ml.	Balance analytique (OHAUS <sup>R</sup> ).	Hydroxyde de sodium.
Erlenmeyers de 250ml.	Etuve (Venticell).	Hexane.
Entonnoirs.	Sepectrophotomètre (Optizen 3220UV/VIS).	Réactif de Folin-Ciocalteu
Tubes à essai.	Extracteur Soxhlet	DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle).
Micropipettes.	(Franz Von Soxhlet).	Trichlorure de Fer FeCl <sub>3</sub> .
Plaques CCM.	Chambre UV (Caution)	Acide acétique.
Papier Wattman (papier filtre).N°1		Chloroforme
Boîtes en verre.		
Cuve en verre.		

### II.1.3. Caractéristiques des poudres obtenues

Les parties d'intérêts ont été broyées afin obtenir une poudre relativement fine ayant une couleur verdâtre foncée pour les feuilles de *Daphné gnidium* L, *Cupressus sempervirens* L, *Juniperus communis* L et plus claire avec un aspect cotonneux pour celles de *Thymelaea hirsuta* Endel. (**Figure 11**).



**Figure 11** : Aspect des poudres des feuilles de *Daphné gnidium* L (a), *Cupressus sempervirens* L (b), *Juniperus communis* L (c) , *Thymelaea hirsuta* Endel (d) (photos originales).

## II.2. Screening phytochimique

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Elles se basent sur des réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques comme les tanins, coumarines, flavonoïdes (Hamidi, 2013).

### II.2.1. Coumarines

Test de confirmation : 1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV (Santanu *et al.* (2011).

### II.2.2. Tanins

2g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH à 80%. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajout de FeCl<sub>3</sub> à 1% permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiqes (Santanu *et al.* (2011).

## II.3 .Méthodes d'extraction des polyphénols

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Elle est choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la méthode d'extraction, notamment le pH, la température, le rapport quantité de matière végétale au volume du solvant et les intervalles de temps (**Djouahra, 2012**).

### II.3.1. Extraction par macération

#### II.3 .1 .1.Le principe

Le principe de cette méthode repose sur l'extraction solide –liquide qui est une opération de séparation qui consiste à extraire un constituant solide d'une matrice qui en comporte plusieurs, en le transférant sélectivement vers une phase liquide (**Bruneton, 1999**).

#### II.3 .1 .2.Mode opératoire

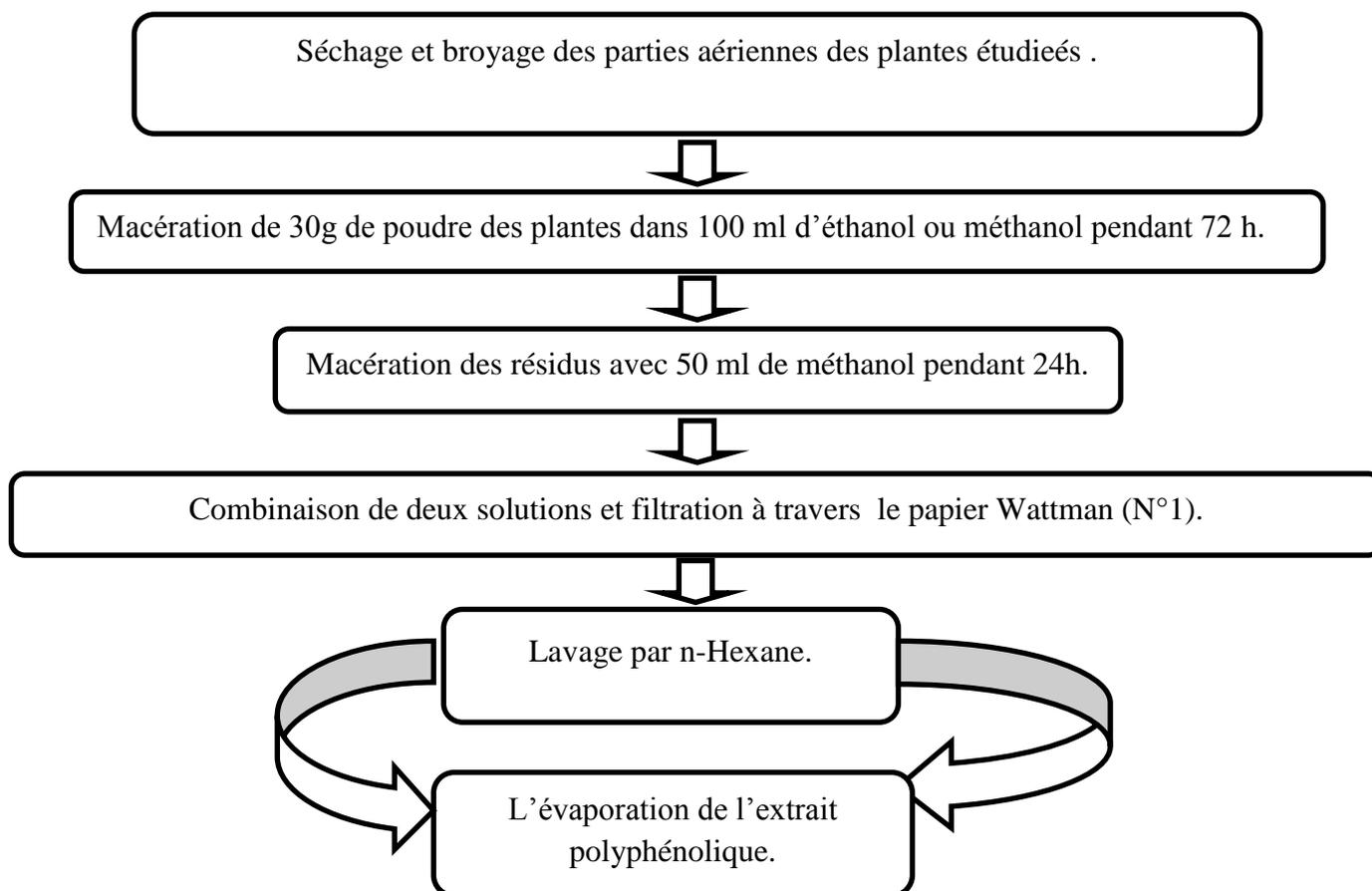
30g de la poudre de plante sont laissées macérer indépendamment dans 100ml de méthanol pendant 72h sous agitation magnétique à l'abri de la lumière.

Après une filtration sur coton, ensuite sur papier filtre, le résidu est extrait pour la deuxième fois avec de 50ml de l'éthanol ou méthanol pendant 24h à 48h. Les deux solutions sont ensuite combinées et filtrée à travers le papier filtre (Wattman n01).

La solution filtrée est conservée à 4°C pendant une nuit, puis transvasée dans une ampoule à décanter afin d'éliminer les impuretés par lavage avec du n- Hexane 30 ml (3 fois).

L'extrait méthanolique est ensuite soumis à une évaporation à basse pression à 40°C, puis récupéré dans des boites en verre (**Figure 12**).

Le protocole expérimental intégral est présenté dans la figure12 :



**Figure 12** : Les étapes d'extraction des polyphénols totaux par macération.

### II.3.2. Extraction par Soxhlet

L'extraction dans l'appareil appelé Soxhlet est toujours considérée parmi une technique standard et la principale pour la comparaison avec les autres méthodes (**Waksmundzka-Hajnos et al. (2008)**).

#### II.3.2.1. Mode opératoire

25g de l'échantillon est placé dans une cartouche, qui est pendant le fonctionnement rempli en continu avec une partie fraîche de solvant provenant d'un ballon de distillation.

Dans notre travail, on a utilisé 200 ml de méthanol qui lors du chauffage, émet des vapeurs qui passent par siphon et entrent dans le réfrigérant en formant des gouttelettes de solvant traversant la plante. Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement, le siphon élimine le soluté de la cartouche et le renvoie dans le ballon de distillation. L'opération est effectuée jusqu'à ce que l'extraction soit complétée pendant 5-6 heures à température 40 °C (**Figure 13**).

L'évaporation du solvant est faite dans l'étuve de séchage à 40 °C.



Figure 13 : Appareil de Soxhlet.

## II.4. Analyse quantitative des extraits polyphénoliques

### II.4.1. Détermination des rendements en polyphénols

Le taux d'extraction ou le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits bruts à l'état sec et celle de la matière végétale utilisée, il est calculé comme suit d'après **Ouahes *et al.* (1988)**.

$$R(\%) = [(P1 - P0) / P] * 100$$

- P : poids initial de l'échantillon (g);
- P0 : poids du bécher vide (g);
- P1 : poids du bécher après évaporation totale (g).

### II.4.2. Dosage des polyphénols totaux

#### II.4.2.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux est effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **(Wong *et al.* (2006))**.

Celle-ci repose sur l'oxydation des hydroxyles libres des composés phénoliques par le mélange d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) et phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) qui constitue le réactif de Folin-Ciocalteu (de couleur jaune) la réduction de ces acides donne naissance à des oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) colorés en bleu, cette coloration dont l'absorbance mesurée à 760nm est proportionnelle au taux de composés phénoliques **(Riberau-Gayon, 1968)**.

### II.4.2.2. Mode opératoire

La solution mère est préparée en diluant 0,2 mg d'acide gallique dans 1ml d'eau distillée, les solutions des différents échantillons à doser et la gamme étalon sont préparées de la même manière et dans les mêmes conditions. L'équation obtenue de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique est la suivante :  $y = 45,581 + 0,0355x$ .

Nous ajoutons à 0,25 ml de chaque extrait, 0,25 ml de réactif de Folin Ciocalteu, 3 min plus tard, on rajoute 0,25 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3$ ) à 20%. On complète chaque solution à 2 ml avec de l'eau distillée, les valeurs sont mentionnées dans le tableau II de dosage des polyphénols. Les tubes sont mis au bain Marie bouillant pendant quelques minutes (1 à 10 min) après refroidissement, la densité optique (DO) est lue à 765 nm. Les lectures sont faites par rapport à un témoin (eau distillée additionnée des deux réactifs).

**Tableau II** : Protocole de dosage des polyphénols

	Témoin	Extraction par macération				Extraction par Soxhlet			
		Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
<b>Extrait de plante</b>	-	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
<b>FolinCiocalteu (ml)</b>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
<b><math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math> (ml)</b>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
<b><math>\text{H}_2\text{O}</math> (ml)</b>	1,5	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
<b>Volume total (ml)</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2

### II.5. Analyse qualitative des extraits polyphénoliques

L'analyse qualitative est faite par chromatographie sur couche mince (CCM) qui est une méthode efficace et rapide, associant la sensibilité à la simplicité pour identifier les substances, en fonction de leur façon de migration dans des conditions données.

#### II.5.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est une chromatographie liquide-liquide exécutée sur une couche de particules d'une substance polymérisée immobilisée sur un support planaire. Elle permet la séparation d'un mélange en leurs constituants; en se basant sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile qui intervient pour faire la migration des produits, une vitesse lui est assignée ; la constante spatiale est alors transformée en une autre dimension le temps (Yrjonent, 2004).

Dans notre étude on a utilisé une plaque CCM standard de (20cm× 20cm) recouverte de gel silice (Silicagel 60 F254 de 0.25mm d'épaisseur) fixé sur un support en aluminium (Merck) qui est ensuite découpé en de plaque de (10 cm × 10cm).

### II.5.2.Mode opératoire

On dépose 10µl de chaque extrait de la plante à l'aide d'une micropipette sur la plaque à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base. Les dépôts sont séchés et la plaque est ensuite mise dans la cuve (chambre de migration) contenant la phase mobile.

Les différents composés de la plante migrent par capillarité à une vitesse qui dépend de leur affinité pour la phase stationnaire et pour l'éluant (solvant). Le système solvant choisi est acide acétique/chloroforme (9/1, V/V).

Quand le front du solvant arrive à 1 cm du bord supérieur de la plaque, cette dernière est retirée séchée et observée sous une loupe UV à 356 nm et 254 nm pour la révélation et l'identification des différents spots remarquables.

Le rapport frontale RF est calculé à partir l'équation suivante d'après (**Cheymol et Hoff, (1999)**).

$$RF = D_c / D_s$$

Où :

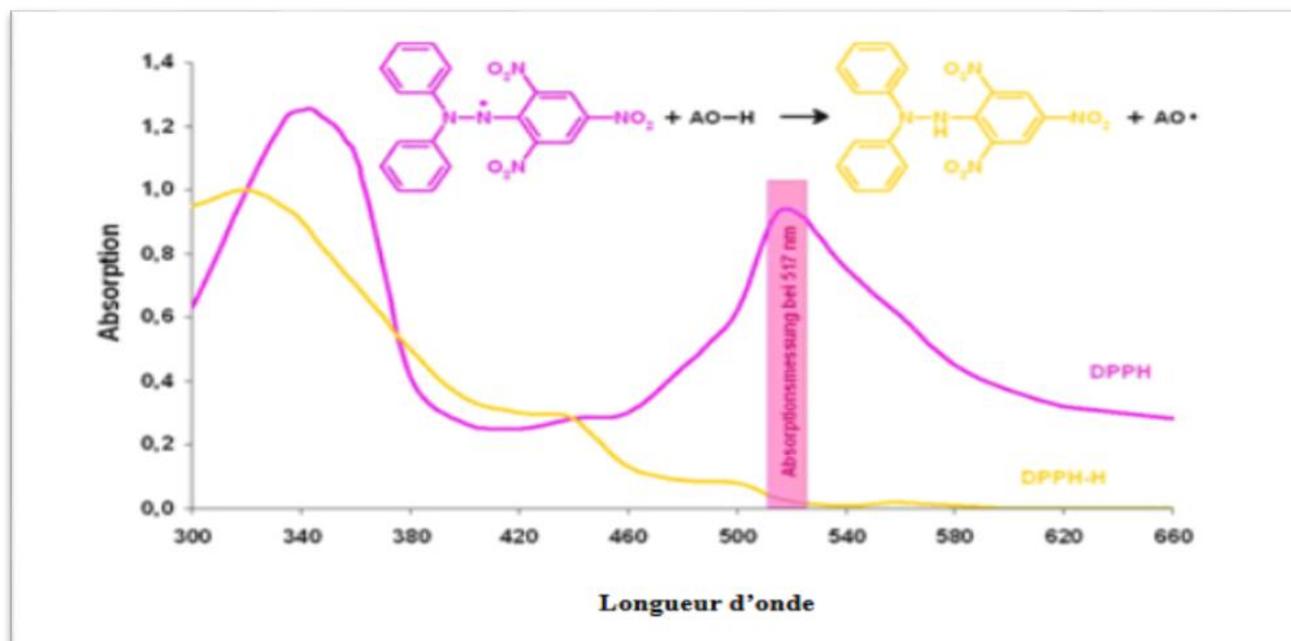
- **D<sub>c</sub>** : Distance parcourue par le composé ;
- **D<sub>s</sub>** : Distance parcourue par le front du solvant.

## II.6.Etude de l'activité antioxydante des extraits polyphénoliques par Test DPPH

### (2.2 .Diphenyl 1 picrylhydrazyl)

#### II.6.1.Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2.2 diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Brand-Williams et al.(1995)**).



**Figure 14:** Structure et spectre d'absorbance UV/VIS du radical DPPH<sup>H</sup>, et de sa forme réduite DPPH (Dransfield *et al.* (2000)).

## II .6.2.Mode opératoire

Dans des tubes on introduit 1 ml de chaque extrait (0,1mg/ml) et 1ml de la solution méthanolique au DPPH (0,1 mM), après agitation au vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par mesure de l'absorbance à 517 nm.

Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique au DPPH et de 1ml de méthanol.

Plusieurs concentrations sont testées (25µg/ml–200µg/ml). Les essais sont effectués en triple.

## II.6.3.Expression des résultats

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti radicalaire où l'inhibition des Radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante (Masuda *et al* ,1999) :

$$I\% = (A_{\text{control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

Avec :

- $I\%$  = pourcentage de piégeage du radical DPPH;
- $A_{\text{control}}$  = DO du témoin (méthanol+ DPPH);
- $A_{\text{échantillon}}$  = DO de l'extrait + DPPH

### III.1. Screening phytochimique

La première partie de notre étude consiste à détecter les différentes familles des composés phénoliques existantes dans les feuilles (la partie aérienne) des quatre plantes (*Daphné gniduum* L., *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L., *Cupressus sempervirens* L.).

Les tests appliqués sont basés sur des colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.

**Tableau III** : Les différents tests de criblage phytochimique :

Les composés	Les plantes	Observation	La couleur
Les coumarines	<i>Daphné gniduum</i> L.		(+) jaune verdâtre
	<i>Thymelaeahirsuta</i> Endel		(+++ )Jaune verdâtre
	<i>Cupressus sempervirens</i> L		(+++ )Jaune verdâtre
	<i>Juniperus communis</i> L.		(++)Jaune verdâtre
Les tannins galliques	<i>Daphné gniduum</i> L.		(+++ )Bleu noir
	<i>Cupressus sempervirens</i> L		(+++ ) Bleu noir
	<i>Juniperus communis</i> L		(+++ )Bleu noir
Les tannins Cathéchiques	<i>Thymelaea hirsuta</i> Endel		(+++ ) brun verdâtre

(+++): Réaction fortement positive

(++): Réaction moyennement positive

(+): réaction faiblement positive

L'analyse des résultats du dosage qualitative a permis de déceler l'existence ou l'absence des différents composés phénoliques pour chaque plante.

En effet, il ressort de cette analyse que les feuilles des quatre plantes possèdent presque la même composition en tanins et coumarines.

Mais, il faut signaler que les coumarines sont présents en grande quantité chez *Thymelaea hirsuta* Endel, *Cupressus sempervirens* L par contre pour *Daphné gnidum*L et *Juniperus communis*L sont présentes en faible quantité.

Ainsi que pour les tannins cathéchiques, ils sont présents seulement dans les feuilles de *Thymelaea hirsuta* Endel, par contre les tannins galliques sont présents dans les feuilles *Daphné gnidum* L,*Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L.

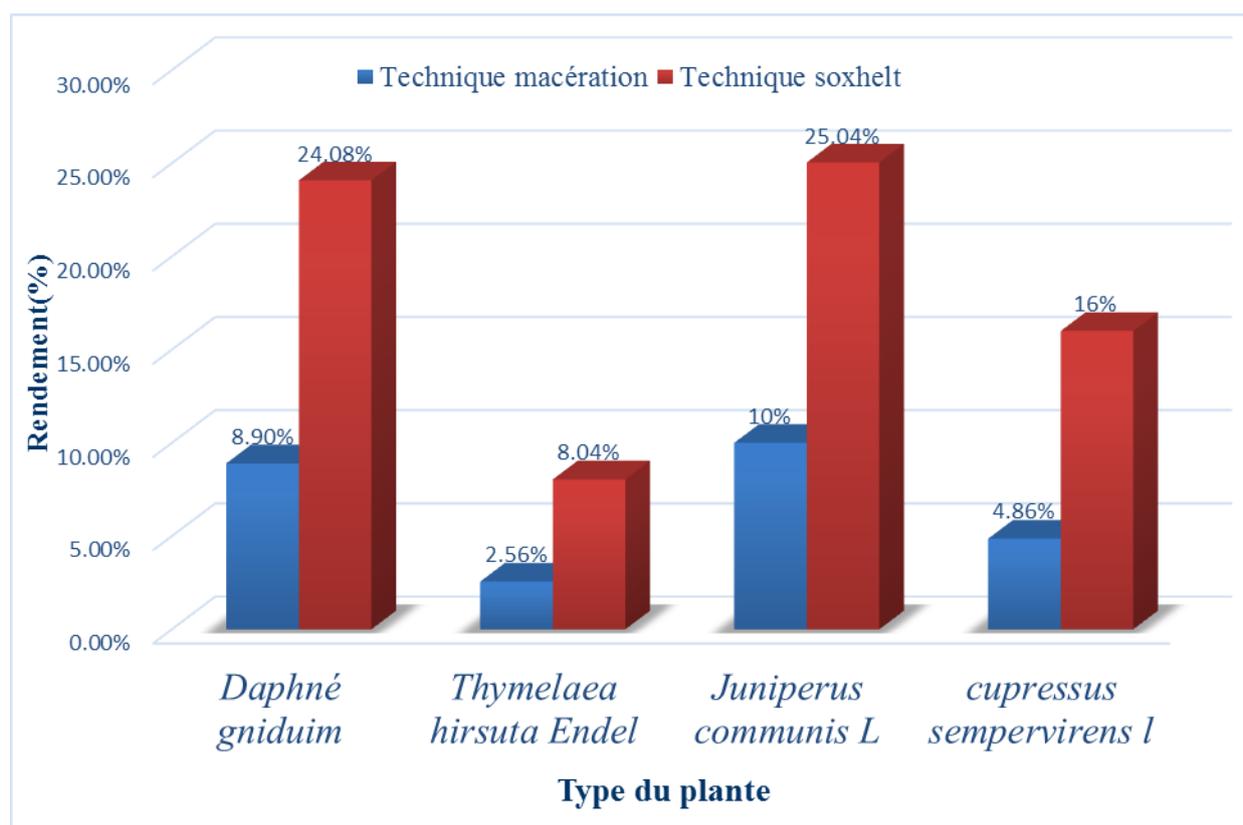
Selon **Mohammedi (2013)**, le screening phytochimique réalisé sur les feuilles de *Daphné gnidium* Let *Thymelaea hirsuta* Endel, récoltées dans de Tlemcen, a révélé la présence des polyphénols, flavonoïdes coumarines et les tannins.

**Maryam et al, (2013)**, montrent l'existence de coumarines, de flavonoïdes, de saponines et de tanins sur les feuilles de *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L.

L'abondance en principes actifs confère à ces plantes des propriétés pharmacologiques remarquables **Konkon et al. (2006)**. Ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques. La différence de la composition chimique des quatre plantes étudiées, et des mêmes plantes dans une autre région peut être expliquée par l'influence de plusieurs facteurs sur la présence, l'absence et la répartition des différents principes actifs comme, le climat, la nature du sol, eau, altitude (**Boughrara, 2016**).

### III .2 .Rendement d'extraction des polyphénols des plantes

Les résultats du rendement d'extraction polyphénolique de *Daphné gnidum* L., *Thymelaea hirsuta* Endel,*Juniperus communis* L.,*Cupressus sempervirens* L. par macération et par Soxhlet sont montrés sur la figure15.



**Figure15** :Histogramme des rendements polyphénoliques.

D'après les résultats nous remarquons que le taux d'extraction par Soxhlet est nettement supérieur à ceux obtenus dans l'extraction par macération et cela quelle que soit la plante étudiée. D'ailleurs, pour l'extrait sec méthanolique (les polyphénols) de *Daphné gnidium* L, on note un rendement élevé en poly- phénols (24,08%) obtenu par Soxhlet contre un rendement faible (8,09%) obtenu par macération, de même façon pour *Thymelaea hirsuta* Endel pour laquelle on note un rendement acceptable en polyphénols (8,04%) obtenu par Soxhlet et un rendement faible (2,56%) obtenu par macération.

D'après ces données, on remarque aussi que *Daphné gnidium* L est plus riche en polyphénols (24,08%, 8,90%) que l'autre espèce étudié.

Avec le Soxhlet, **Abetti (2014)** a obtenu un rendement de 29,75 % pour la plante *Daphné gnidium* L. résultat qui est très proche du notre.

Pour la plante *Thymelaea hirsuta* Endel, **Kadi (2016)** a montré que le rendement en polyphénols par macération de cette espèce est égal à 10%, une autre étude menée par **Yahyaoui et al. (2017)** a obtenu 6,18% en utilisant le Soxhlet.

D'autre part, pour l'extrait sec méthanolique de *Juniperus communis* L, on note un rendement élevé en polyphénols (25,01%) obtenu par Soxhlet, et un rendement (10%) par

macération. Alors que pour *Cupressus sempervirens* L, les rendements sont de 16% par la méthode de Soxhlet, et 4,08% par la méthode de macération.

D'après ces données, on remarque que *Junipeurs communis* L est plus riche en polyphénols (25,04%, 10%) que *Cupressus sempervirens* L (16%, 4,08%).

**Modnicki et al. (2009)**, ont trouvé que les rendements en polyphénols dans l'extrait de feuilles de *Junipeurs communis* L qui sont de 2,40±0,23%, 3,43±0,17% respectivement pour macération et Soxhlet.

**Mazari, (2014)**, a trouvé que le rendement de polyphénols de l'extrait des feuilles de *Cupressus sempervirens* L est de 24,2 %.

Ces divergences obtenues dans les rendements d'extraction méthanolque pour les mêmes espèces sont liées à plusieurs facteurs. D'ailleurs, des études avaient montré d'une part l'influence de la technique d'extraction et les facteurs de l'environnement : la région, le climat le sol, et d'autre part, le solvant utilisé **Ebrahimi et al. (2008)**.

### III.3.Dosage quantitative

#### III.3.1.Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales(**Abdel Hameed, 2008**).

Une courbe d'étalonnage a été alors effectuée avec l'acide gallique (figure16), une mesure de la densité optique (DO) de l'extrait a été réalisée à 765nm.

La quantité des polyphénols correspondante a été déterminée par l'équation :  $Y=ax+b$  et elle est rapportée en mg équivalent d'acide gallique /g de la poudre.

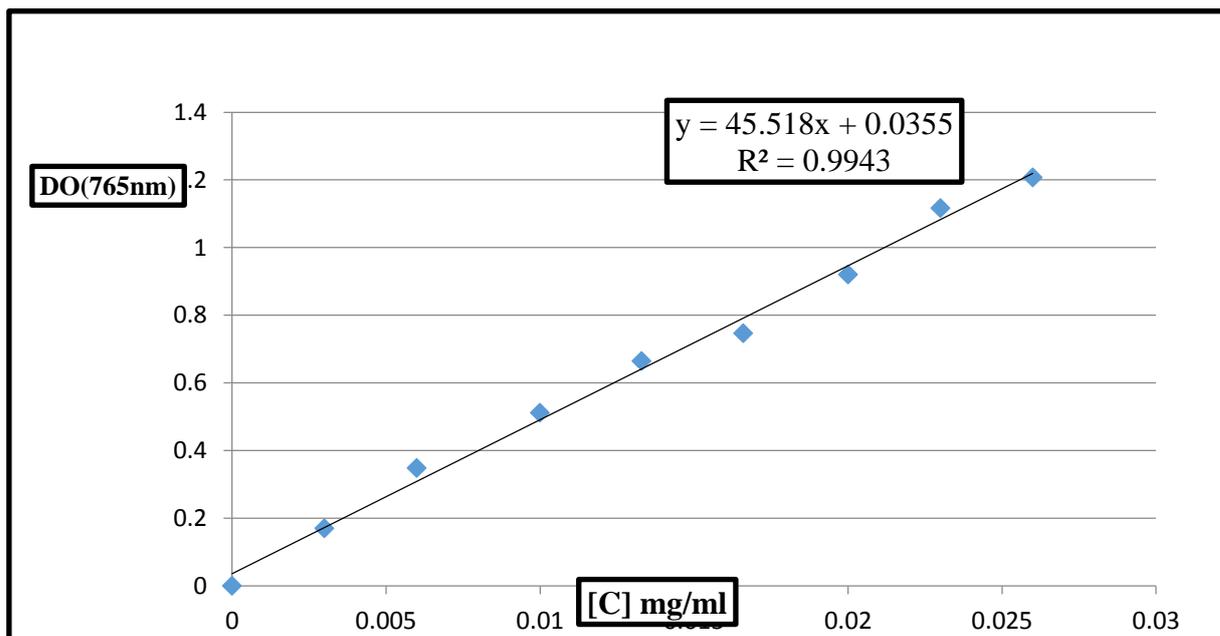


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0,2mg /1ml).

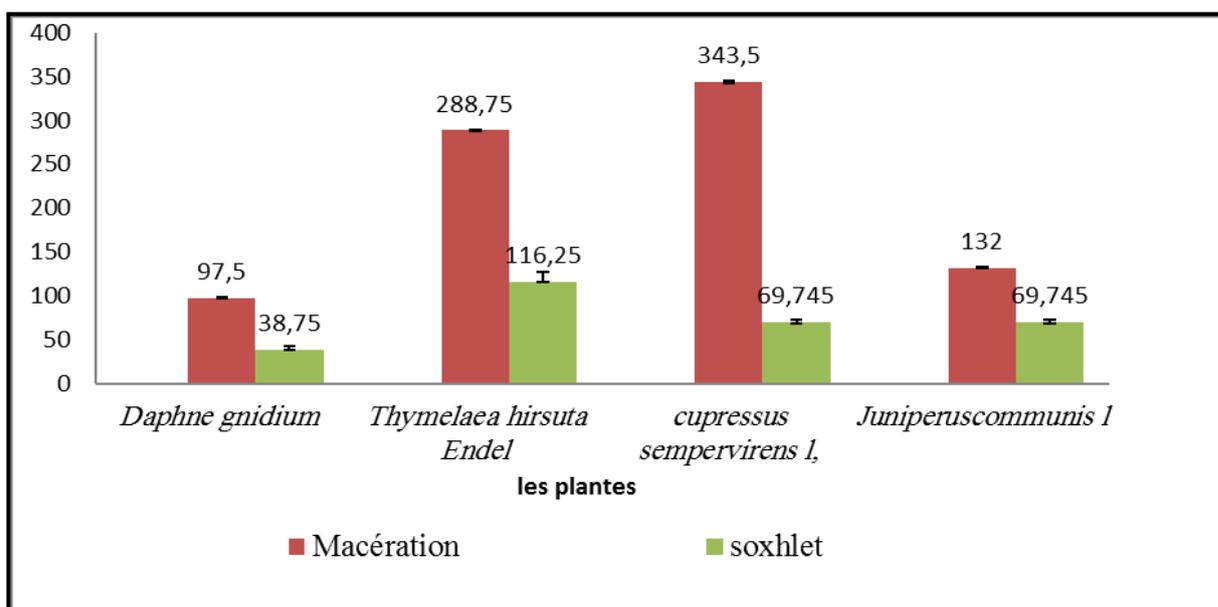


Figure 17 : Histogramme des teneurs polyphénoliques totaux des extraits.

Les quatre plantes étudiées montrent des teneurs différentes en polyphénols totaux. La valeur la plus élevée est obtenue avec *Cupressus sempervirens* L, suivie par *Thymelaea hirsuta* Endel puis *Juniperus communis* L. et enfin *Daphné gnidium* L. pour la macération. Par contre par la méthode de Soxhlet on remarque que la meilleur teneur polyphénolique est obtenu avec la plante *Thymelaea hirsuta* Endel. (figure 17).

Cette variation quantitative de contenu polyphénolique entre les quatre plantes peut être liée aux facteurs génétiques (puisque les quatre plantes sont classées dans des familles et genre différentes), mais aussi liée aux facteurs climatiques ou environnementaux (la zone géographique, la sécheresse, le sol et les maladies) **Ebrahimi et al. (2008)**

- ***Daphné gniduum L.***

Dans notre étude les teneurs en phénols totaux de *Daphné gniduum L* dans les deux méthodes d'extraction (macération, Soxhlet) sont respectivement ( $97,5 \pm 3,181$  mg EAG/g MVS) ( $38,75 \pm 1,697$  mg EAG/g MVS). Avec la méthode de macération, le résultat obtenu dans notre étude est très élevé par rapport à celui trouvé par **Mohammedi (2013)** qui a obtenue ( $2,53$  mg EAG/g). Par contre la valeur obtenus par Soxhlet est inférieur en la comparant à celle trouvé par **(Abetti, 2014)** qui est de l'ordre de  $68,53$  mg EAG /g /MVS.

- ***Thymelaea hirsuta Endel.***

La plante de *Thymelaea hirsuta Endel* présente des teneurs en polyphénols totaux qui sont respectivement ( $288,75 \pm 10,606$  mg EAG/g MVS), ( $116,25 \pm 5,303$  mg EAG/g MVS) pour la macération et Soxhlet. Avec la macération, elles sont très élevées comparés aux résultats de **Yahyaoui et al. (2017)** qui ont trouvé des taux de  $29,37 \pm 1,34$  mg EAG/g et inférieur avec la deuxième méthode sachant que ces auteurs ont trouvé un taux de  $259,63 \pm 3,17$  mg EAG/g

- ***Cupressus sempervirens L.***

Les teneurs en polyphénol totaux de *Cupressus sempervirens L* sont respectivement ( $343,5 \pm 2,121$  mg EAG/g MVS) et ( $69,745 \pm 0,530$  mg EAG/g MVS) pour les deux méthodes macération et Soxhlet. Ce taux est supérieur à celui obtenu par **Mazari, (2009)** et qui est de  $29,7$  mg EAG/g par macération.

- ***Juniperus communis L***

Pour la teneur en polyphénols de *Juniperus communis L.* le résultat obtenu par **Miceli et al. (2009)** qui est de l'ordre de  $59,17 \pm 1,65$  mg EAG/g MVS est faible par rapport à celui obtenu durant notre étude ( $132 \pm 3,181$  mg EAG/g MVS), avec la méthode de macération.

Les résultats montrent aussi qu'il n'a pas une relation entre le rendement d'extraction et l'analyse quantitative des polyphénols car le méthanol qui est utilisé comme solvant d'extraction pourrait solubiliser autres substances de nature non polyphénoliques.

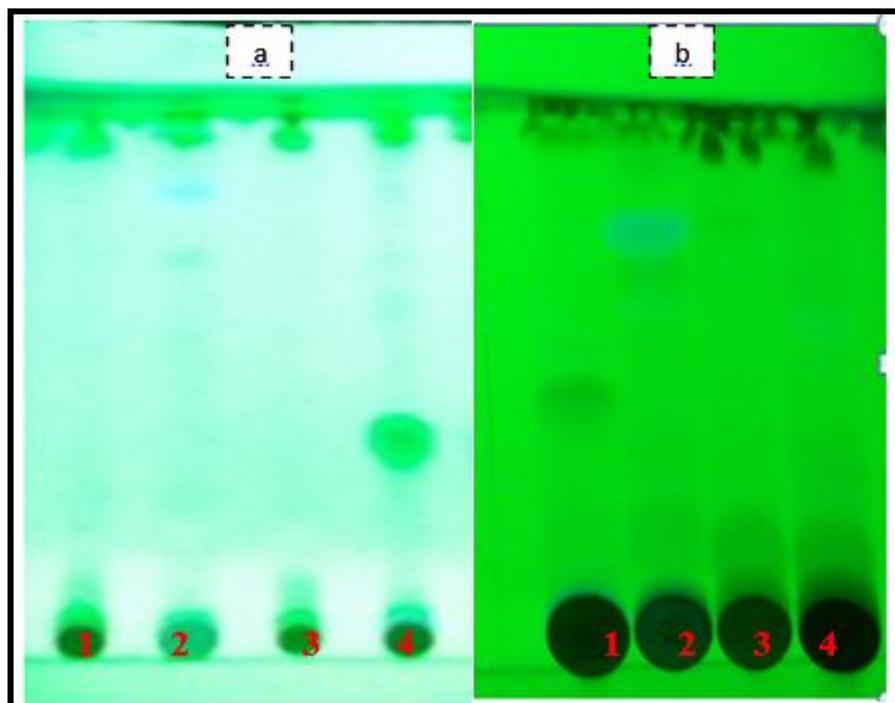
### III.4.Chromatographie sur couche mince (CCM)

Nous avons soumis nos extraits à une analyse qualitative par chromatographie sur couche mince dans le but d'estimer le nombre des principes actifs dans chaque extrait. Après le séchage et révélation avec les vapeurs d'ammoniaque plusieurs taches ont été mises en évidence (tableau VI).

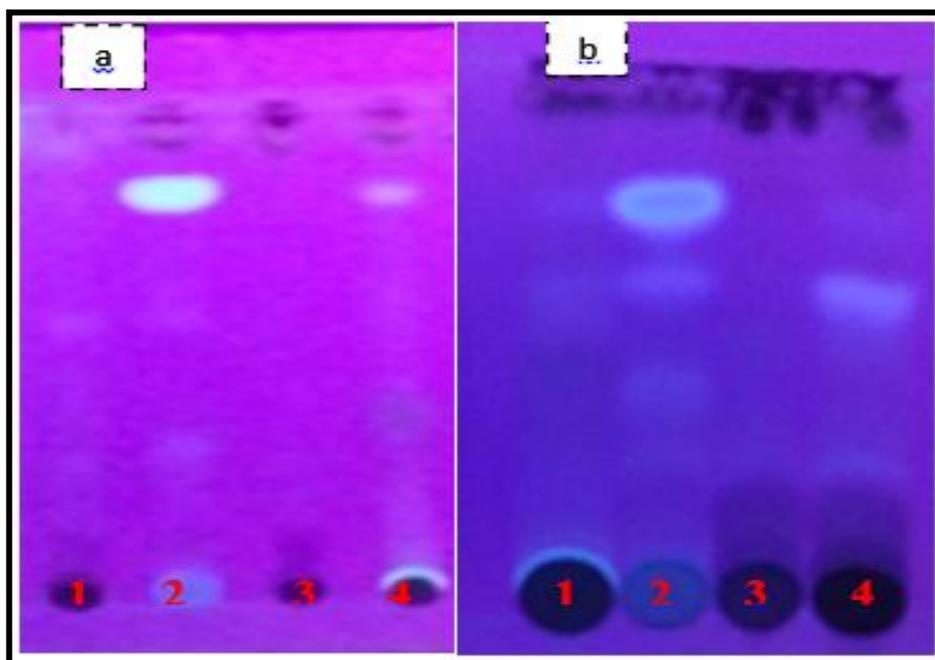
Les observations sous une lampe UV à 365nm et 245nm des ces plaques, sont illustrées dans les (figures 19 et 20)

**Tableau VI** : les mesures de rapport frontal (Rf) de la chromatographie sur couche mince :

<b>La méthode de macération</b>		
<b>Les plantes</b>	<b>Des taches</b>	<b>Rapport frontal</b>
<i>Daphné gniduim L .</i>	01	0.073
	03	0.23
	04	0.30
	06	0.45
<i>Thymelaea hirsuta Endel</i>	03	0.23
	04	0.30
	07	0.53
	09	0.60
	10	0.67
<i>Cupressus sempervirens L .</i>	03	0.23
<i>Juniperus communis L .</i>	01	0.073
	05	0.36
	06	0.53
	08	0.57
	9	0.60
	10	0.67
<b>La méthode de Soxhlet</b>		
<i>Daphné gniduim L</i>	05	0.36
	07	0.53
	10	0.67
<i>Thymelaea hirsuta Endel .</i>	03	0.23
	05	0.36
	07	0.53
	10	0.67
<i>Cupressus sempervirens L .</i>	05	0.36
	07	0.53
	10	0.67
<i>Juniperus communis L .</i>	01	0.073
	05	0.36
	06	0.45
	08	0.57
	09	0.60
	10	0.67



**Figure 18 :** Chromatogrammes des CCM montrant des tâches de couleur différentes observées sous UV à 254 nm. 1: *Daphné gnidium* L. 2: *Thymelaea hirsuta* Endel, 3: *Cupressus sempervirens* L. 4 : *Juniperus communis* L. a: macération et b : Soxhlet



**Figure 19 :** Chromatogrammes des CCM montrant des tâches de couleur différentes observées sous UV à 365nm. 1: *Daphné gnidium* L. 2: *Thymelaea hirsuta* Endel, 3: *Cupressus sempervirens* L. 4 : *Juniperus communis* L. a : macération et b : Soxhlet.

D'après nos résultats, on remarque que le solvant utilisé (acide acétique/ chloroforme 9v/1v) permet une bonne séparation des composés poly-phénoliques des quatre plantes étudiées.

- ***Daphné gniduum* L.**

Pour les composés polyphénoliques qui sont extraits par macération on remarque la présence de quatre taches de Rf différentes par contre pour la méthode de Soxhlet il y a trois taches seulement.

Le résultat obtenu par **Chebli, (2017)** montre la présence de 12 taches chez la même plante mais en utilisant le système solvant (l'acétate d'éthyle/méthanol/eau distillé (100 :13,5 :10 v/v/v). Cette différence peut être attribuée à la différence de la phase mobile utilisée.

- ***Thymelaea hirsuta* Endel .**

Après la révélation sous UV (245nm et 365nm) on observe la présence de taches qui migrent à différentes valeurs de Rf (0,67 ,0.60 ,0.53 ,0 .30 ,0.23) concernant l'extrait obtenu par macération et pour la méthode Soxhlet on a quatre taches seulement de Rf (0.67 ,0.53, 0.36 ,0 .23).

- ***Cupressus sempervirens* L.**

Le système solvant (acide acétique /chloroforme 9 :1v/v) permet la séparation d'une seule tache de Rf (0.23) de l'extrait de macération, par contre on observe quatre taches avec Soxhlet.

- ***Juniperus communis* L.**

Son extrait polyphénolique présente six taches avec l'extrait de macération et cinq taches pour l'extrait obtenu par Soxhlet.

Le travail de **Mazari,(2009)** qui a fait la séparation des acides phénols totaux des trois plantes *J.Phoenicea*, *J. oxycedrus* et *C. sempervirens* sur CCM par utilisation de système acétone/toluène/acide formique (30:30:10, v/v/v) a permis de séparer 9 tâches dans l'extrait de *J.Phoenicea* et de *J. oxycedrus* 8 tâches dans celui de *C. sempervirens*.

Ces résultats de CCM nous ont permis de conclure que la méthode d'extraction influence sur la qualité des composés extraits.

D'une façon générale les taches observées sous UV à 365nm et 245nm pour toutes les plantes sont bleues, brunes, verdâtres.

Les bandes de fluorescence bleue correspondant aux acides phénols ou à la présence de coumarines selon **Diallo, (2005)**. Tandis que celles colorées en brun correspondant aux flavonols et flavones selon **Dohou et al. (2003)**.

### III.5 .Etude de l'activité antioxydante

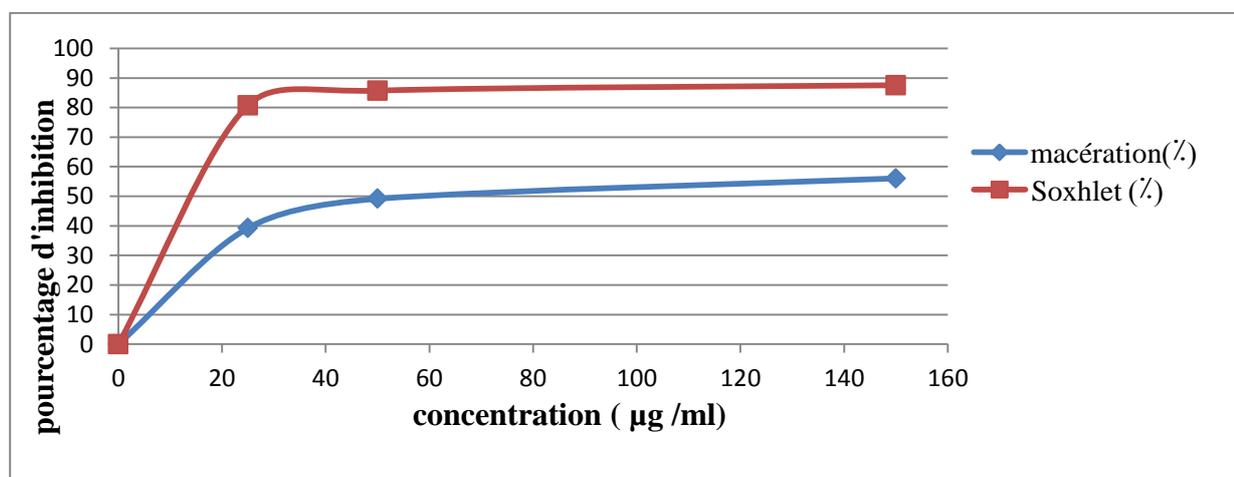
De nombreuses études démontrent l'importance portée aux antioxydants naturels dans les domaines de l'industrie agroalimentaire et médicale, mais également leurs rôles protecteurs contre les espèces réactives oxygénées, ainsi que la corrélation existant entre les composés bioactives dans les matières végétales et leur capacité antioxydants (**Kong et al. (2010)**).

L'activité antioxydante a été vérifié en suivant le taux de la réduction du radical libre DPPH par les extraits des quatre plantes (*Daphné gniduim L*, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L) préparés à (25, 50, 100, 150 $\mu$ g/ml), pour les deux méthodes macération et Soxhlet respectivement ,les essais sont réalisés trois fois pour donner des valeurs de (moyenne +l'écart type ).

Après les mesures de l'absorbance à 517 nm des extraits, pour chaque plante.

Les résultats sont présentés dans les déférentes figures ( 20.21 ,22. 23 ,24 )

Les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radicale DPPH en fonction des concentrations des extraits de (*Daphne gniduim* L, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L) ont montré que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les deux extraits des deux méthodes augmente avec l'augmentation de concentration des extraits, comme observé pour la molécule de référence Querciténe qui est mentionner dans l'annexe (02) .



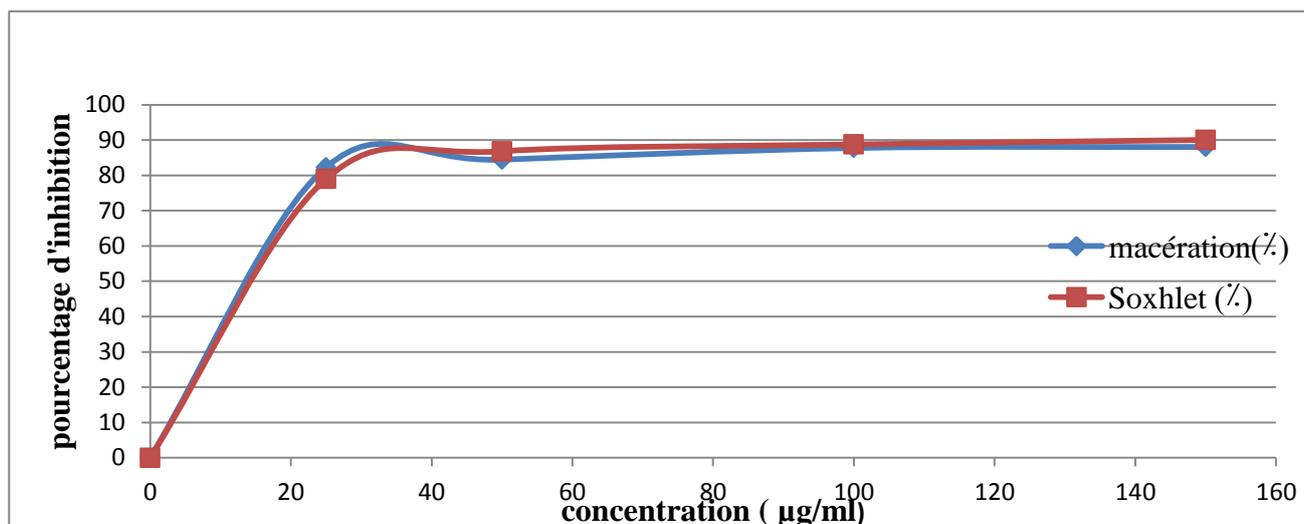
**Figure 20:** Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de *Daphné gniduim* L obtenues par macération et Soxhlet.

- ***Daphné gniduum* L.**

En comparant les deux méthodes d'extraction, on remarque que pour cette plante les substances isolées avec le Soxhlet ont une activité antioxydante importante que celle de macération.

Nos résultats sont en accord avec des études antérieures, celles obtenues par Chebili, (2017) indiquent que les extraits présentent la capacité à piéger le radical libre DPPH dans les feuilles de *Daphné gniduum* l.

**Didi, (2009)**, a constaté que *Daphné gnidium* L. a montré de bonne activité antioxydant et bonne capacité de piégeage des radicaux libres.

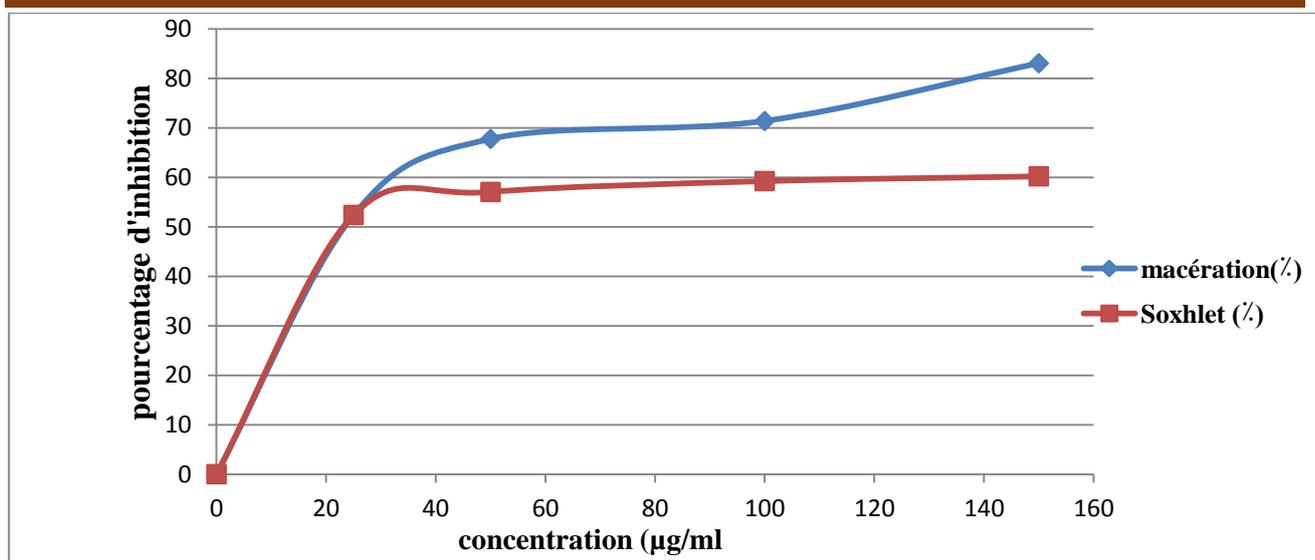


**Figure 21** : courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de *Thymelaea hirsuta* Endel obtenu par macération et Soxhlet .

- ***Thymelaea hirsuta* Endel .**

D'après les résultats, on constate que les substances isolées avec macération de *Thymelaea hirsuta* Endel ont une activité antioxydante importante que celle de Soxhlet. (**Figure 21**).

**Yahyaoui et al. (2017)**, ont révélé que les extraits présentent la capacité à piéger le radical libre DPPH dans les parties aériennes de *Thymelaea hirsuta* Endel, qui pourraient être utilisées comme source naturelle d'antioxydants. La partie aérienne de cette plante montre un potentiel en tant qu'agent thérapeutique pour traiter ou prévenir le stress oxydatif.

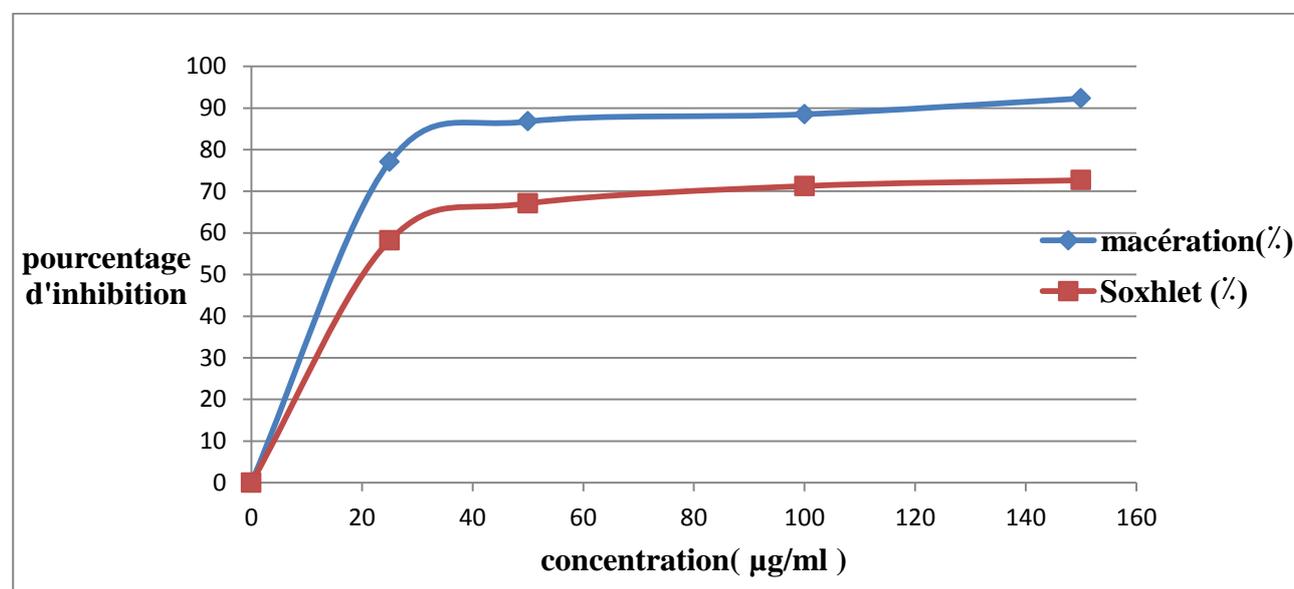


**Figure 22** : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de *Cupressus sempervirens* L. obtenu par macération et Soxhlet .

- *Cupressus sempervirens* L.

A partir des résultats obtenus pour cette plante, les substances isolées avec macération ont une activité antioxydante importante que celle de Soxhlet. (**Figure 22**).

Ce résultat est confirmé avec celui de (**Mazari, 2009**), les fractions du *Cupressus sempervirens* L possèdent des capacités de réduction du radical libre DPPH.



**Figure 23** : Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits de polyphénols totaux de *Juniperus communis* L obtenu par macération et Soxhlet.

- *Juniperus communis* L.

Nos résultats pour *Juniperus communis* L montre que les substances isolés avec macération ont une activité antioxydante importante que celle de Soxhlet. (**Figure**).

ils sont similaires et proche à ceux obtenus par **Natalizia et al. (2009)**, qui ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait *Juniperus communis* L, cette plante médicinale peut représenter des sources potentielles d'antioxydants naturels.

### III. 4.1. La détermination de l'IC50

L'effet scavenger des extraits vis – à vis du radical DPPH est exprimé par la concentration inhibitrice à 50%(IC50) qui correspondant à la concentration des polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50%de la concentration initial du DPPH. Une IC50 faible représentant l'activité antioxydant la plus élevée.

Tous les IC50sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés. (**Manallah, 2012**) Les résultats de l'activité antioxydante pour chaque plante sont exprimés en des concentrations IC50%par la méthode DPPH sont présentés dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Activité antioxydante des extraits de plantes exprimés en d'IC50%DPPH :

L'extrait	IC50%.µg /ml (macération)	IC50%.µg/ml(Soxhlet)
<i>Daphné gniduium</i> L	42	15
<i>Thymelaea hirusata</i> Endel	12	12
<i>Cupressus sempervirens</i> L	21	21
<i>Juniperus communis</i> L	15	20
Quercétine (référence)	≤10	

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 (**Boubekri, 2014**).

Les résultats de ce test montrent que 50%des radicaux libres ont été éliminés par les poyphénols totaux de *Daphné gniduium* L, *Thymelaea hirusata* Endel, *Cupressus sempervirens* L, *Juniperus communis* L, à partir des concentrations de 42, 12,21 ,15 µg /ml sont respectivement, pour la méthode macération ,au même temps pour Soxhlet on a 15,12 ,21 ,20 en µg /ml

Ces résultats sont comparés avec l'extrait de Quercitène a été utilisé comme un antioxydant standard d'IC50≤%. 10µg/ml (presque 2µg/ml) est bien inférieur à ceux les quatre extraits pour les

deux méthodes d'extractions (macération, Soxhlet) donc on montre que le quercétine possède une activité antioxydante très élevée par rapport les plantes étudiés, car il est utilisé à l'état pur contrairement aux extraits brut obtenus par macération ou par Soxhlet polyphénolique.

D'après l'analyse des valeurs d'IC50%, on remarque que le meilleur pouvoir antioxydant est obtenu généralement avec la méthode de Soxhlet qu'avec la méthode de macération donc on peut conclure que c'est avec le Soxhlet que peut purifier et extraire des substances à caractère antioxydant (ce résultat est confirmé lors de dosage de polyphénols par la méthode de Folin Ciocalteu). Par rapport aux plantes étudiées, et avec la méthode de Soxhlet, c'est l'extrait de *Thymeleae hirusa* Endel qui a un pouvoir antioxydant le plus puissant IC50% (12µg/ml), suivie *Daphné gniduum* L d'IC50%(15 µg/ml) ensuite de *Juniperus communis* L. d'IC50% (20µg/ml) et enfin *Cupressus sempervirens* L. d' IC50% (21µg/ml )

Concernant la méthode de macération, c'est l'extrait de *Thymeleae hirusa* Endel qui a un pouvoir antioxydant le plus puissant IC50% (12µg/ml), suivie *Juniperus communis* L d'IC50%(15µg/ml), ensuite *Cupressus sempervirens* L de d'IC50% (21µg/ml)et *Daphné gniduum* L enfin d' IC50% (42µg/ml).

D'après l'étude de **Akrout (2011)** l' IC50%de *Thymeleae hirusa* Endel est de 3.025mg/ml donc (3025µg /ml).

Alors que, **Mohammedi (2013)** indique que l'extrait brut de *Thymeleae hirusa* Endel a une IC50% de  $95.65 \pm 0.6690 \mu\text{g/ml}$  et pour l'extrait brut de *Daphné gniduum* l il est égal à  $55.52 \pm 0.3345 \mu\text{g/ml}$  . Tandis que **Nataliza (2009)** confirme que l'activité antioxydant de la plante *Juniperus communis* L présente une valeur d'IC50% égale à  $0.63 \pm 0.09 \text{mg/ml}$  ce qui correspond à 630 en microgramme.

Donc, en comparant nos résultats avec ces études on peut dire que nos plantes possèdent une forte activité antioxydante.

Les résultats montrent que cette activité est dépendante de la famille de plante non pas de la méthode d'extraction car pour cette dernière, le résultat pour *Daphné gniduum* L. montre que l'activité anti radicalaire est meilleure avec la méthode de Soxhlet avec un taux (38.75) et un taux (97.5)de pour macération contrairement à l'espece *Juniperus communis* L.

Aussi, *Cupressus sempervirens* L qui a donné un taux le plus élevé en composés polyphénoliques 343,5 (mg EAG /gMV) n'est pas l'espèce la plus antioxydante donc on peut conclure que cette dernière ne dépend pas seulement de taux de polyphénols mais de leur nature.

## Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons opté pour l'extraction par deux méthodes (macération et par Soxhlet) des polyphénols totaux de quatre plantes locale *Daphné gniduum* L, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L , puis on a testé leur effet antioxydant in vitro.

La caractérisation des métabolites secondaires dans les quatre plantes a révélé la présence des polyphénols, flavonoïdes, tannins, coumarines.

La détermination des rendements en polyphénols, de ces quatre plantes pour les deux méthodes (macération et Soxhlet) respectivement à montrer que *Juniperus communis* L possède une meilleur rendement (10% ,25,04) .

Après le dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu, la teneur a été estimée une meilleur teneur avec l'extrait de la plante *Cupressus sempervirens* L (343 ,5 ± 2,121, 69 ,745±0,530mg EAG/gMV ) .

La caractérisation des quatre extraits par analyse chromatographique sur couches mince (CCM) pour les deux méthodes (macération et Soxhlet) pour une séparation meilleur avec *Juniperus communis* L on a montré (6 5) taches .

L'activité antioxydante des extraits de quatre plantes est évaluée par l'étude de leurs pouvoir a piégé le radical libre DPPH, les résultats ont montré que l'activité antioxydante est dépendante de la famille de plante et de la méthode d'extraction. D'ailleurs, la meilleure activité anti-radicalaire est observée pour les extraits de la famille *Thymeleaceae* avec la méthode Soxhlet, *Thymeleae hirusa* Endel qui a un pouvoir antioxydant puissant IC50% (12µg/ml).

## Perspectives

Notre étude reste préliminaire, il sera souhaitable de la compléter en :

- Utilisant des techniques plus performantes afin d'identifier les métabolites secondaires bioactives de nos plantes ainsi approfondir l'étude de l'activité biologique .
- Déterminant de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif de médicament synthétique .
- Caractérisant la quantité des composés polyphénoliques par différentes méthodes de séparation ( HPLC , RMN) .
  - Purifiant les polyphénols et déterminer leurs activités antioxydante .
  - Etudiant la toxicité des extraits pour voir la possibilité de leur utilisation.
  - Et enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur l'activité antioxydante des extraits de ces quatre plantes.

## Reférences Bibliographiques

### -A -

- **Abdel –Hameed E.S** (2008). Total phenolic content and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*, **114**: 1271-1277.
- **Abdelli m**(2017). *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat Spécialité microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 2014 P.
- **Adouane m, Rezzak d, Touafek k, Tayeb a ,Houam** (2016). Étude et réalisation d'un dispositif de correction d'angle d'inclinaison d'un système photovoltaïque. *Revue des Energies Renouvelables*. **19**(2) : 191-198
- **Akroum s ,Bendjeddou d , Satta d, Lalaoui, k. (2010)**. "Antibacterial, antioxidant and acute toxicity tests on flavonoids extracted from some medicinal plants." *International Journal of Green Pharmacy* **4** (3): 165.
- **Amari, I . Kassi f. M., Badou j , Tonzibo F., Salah, Z Kone, D.** (2014). "Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire." *Journal of Applied Biosciences* **75**(1): 6192-6201.
- **Adouane S.** (2016). *Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès*, Université Mohamed Khider-Biskra
- **Akroum A., Gonzalez L, El Jani H , Madrid P,** (2011). "Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia." *Food and Chemical Toxicology* **49** (2): 342-347.

### -B-

- **Banks M.** (2004). "Amazon. Com: Opens the books." *Online information review* **28** (2): 30-33.
- **Benhouhou S, Boucheneb N, Adamou I.** (2005). Floristic and ecological characterisation of the Tassili Cypress. *Science et changements planétaires Sécheresse*, **16**(1) :61-66.
- **Boubekri CH** (2014). *Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*. Thèse de Doctorat en

sciences spécialité Chimie, Université Mohamed Khider – Biskra. Faculté des Sciences exactes, des sciences de la nature et de vie département de Sciences de la matière.

- **Bouyahyaoui A**(2016). *Contribution à la valorisation des substances naturelles Étude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien*. Thèse de doctorat en science, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie département de Biologie, 115P.
- **Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane C, Ayachi A** (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubepinemonogyne. *Lebanese Science Journal*, **12** (1) :59-69
- **Bouzid, M.** (2009). "Diagnostic de défaut de la machine asynchrone par réseaux de neurones." These de doctorat, l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Tunis.
- **Boutine Dj** (2011). *Évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne d'une plante endémique Algérie Ampelodes maura*. thèse de magister chimie organique, université Badji Mokhtar faculté des sciences département de chimie, 90P.
- **Brand-Williams W, Cuvelier, M. & Berset, C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*, **28** : 25-30.
- **Bruneton, J.** (1999). "Les tanins." *médicales internationales*, Paris: 369-404.
- **Brunton p, Patras A, DaPieve S, Butler, F.** (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **10**(3) : 308-313.
- **Boubekri, C.** (2014). Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanummelongena par des techniques électrochimiques, Université Mohamed Khider Biskra .
- **Bouhrara Boudjema,** (2016). *Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêt thérapeutiques et nutritif de parc nationale El-kala*. Thèse de doctorat : phytochimie. Université Badji Mokhtar- Annaba.136p.
- **Beloued, A.** (2005). *Plantes médicinales d'Algérie*, Offices des publications universitaires .

-C-

- **Chaouki W, Leger Y, Liagre B, Cherrah Y, Beneytout J-L, Hmamouchi M** (2009). Roots of *Daphne gnidium* L. inhibit cell proliferation and induce apoptosis in the human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmazie*, **64**: 542–546
- **Cavin A, Dyatmyko W, Hostettmann K.** (1999). "Screening of Indonesian plants for antifungal and free radical scavenging activities." *Pharmaceutical biology* **37**(4): 260-268.
- **Cheymol, N. and M. Hoff** (1999). *La microchimie: techniques et expériences*, De Boeck Supérieur.
- **Chebili S, Descusse, A, Artiges, E.** (2017). "Post-injection syndrome and olanzapine pamoate: A severe case report." *L'Encephale* **43** (4): 405.

-D-

- **Didi A, El-Haci I. A, Atik Bekkara, F, & Gherib, M.** (2009). "In vitro antioxidant activity and total phenolic contents in methanol crude extracts from the Algerian medicinal plant *Limoniastrum feei*." *Sci Study Res* **10**: 329-336.
- **Diallo A. M.,** 2005. *Étude de plantes médicinales de Niafunke, phytochimie et pharmacologie de Maeruacrossifulia*. Thèse de doctorat. Université de Bamako.125 p.
- **Dransfield G, Guest P, Lyth, P., Mc Garvey, D, Truscott, T.** (2000). Photo activity tests of TiO<sub>2</sub>-based inorganic sunscreens: Part 1: Non-aqueous dispersions. *J photo chem Photobiol*, **59**: (1-3); 147-151.
- **Dehimi K** (2011). *Étude de quelques propriétés des extraits de Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. Thèse de magister en biotechnologie, Université Mohamed Khider –Biskra, la faculté des sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie ,76P.
- **Deiana M, Rosaa A, casua V , Cottigliab F, Bonsignoreb L , Dessia M , Dessia A** (2003) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts from *Daphne gnidium* L. *JAACS*, **80**(1): 65-70.
- **Dohou N, Khalid Y, Najib G, Idrissi hassani** (2004). Étude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, *thymelaealythroides*. *Acta botanicamalacitana*, **29** :233-239
- **Descusse A, Chebili S, Artiges E.** (2017). Post-injection syndrome and olanzapine pamoate a severe case report. *L'Encephale*43(4) : 405.

- Deiana, G.(2003). "Bibbia e culture: Da Ba'al a JHWH." *Euntesdocete*56(1): 19-30.

-E-

- **Erlund**, (2002) .Chemical analysis and pharmacocinetics of the flavonoïdes in humans .thèse de doctorat d'université d'Helsinki, Finlande. 80 p
- **Enright, W, Arrillaga J, Watson N. Zavahir, J.** (1996). Modelling multi-limb transformers with an electromagnetic transient program. IMACS. International conference
- **Ebrahimi S.,Hadian J**, (2008). "Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages." *Food chemistry* **110** (4): 927-931.
- **Eddine B.** "évaluation d'antioxydante d'une plante endém ampelodesma."

-F-

- **Fournier P , Pelt J** (1999). "Plantes médicinales." Tome III. Menthe à Zacinthe. Connaissances et mémoires européennes, Société nationale d'horticulture de France.
- **Favier A.** (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de biologie clinique* .

-G -

- **Ghedira K.** (2005). "Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique." *Phytothérapie* **3** (4): 162-169.
- **Guignard L, Coussin L, Henry M,** (1985) .Abrégé de phytochimie. Ed : Masson, Paris, PP.121-150.

-H -

- **Hamidi A** (2013). "**Étude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum***." Mém. Magister. Univ. Ouargla 95.
- **Harbone JB.**, 1999 . Plant phenolics. In: Bell EA, Charlwood BV (eds) *Encyclopedia of Plant Physiology*, volume 8 *Secondary Plant Products*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York. Pp, 329-395 .
- **Haluk J., Roussel C** (2000). "Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois." *Annals of forest science* **57**(8): 819-829

-K-

- **Konkon N , Simaga D, Adjoungova A, ZIRIHI C, Kone, B** (2006). "Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique." *Pharm. Méd. Trad. Afr* **14**: 73-80.
- **Kadi K, Sofia,H, Azeddinne Z, Abdelouahab Y** (2016). "Effet antibactérien des extraits de *Thymelaea hirsuta* L."
- **KHELIL M** (2015). "Changements climatiques et ressources en eau en Algérie Vulnérabilité, impact et stratégie d'adaptation." *LARHYSS Journal* ISSN **1112-3680** (21): 15-23.

-L-

- **Lakhdar, L.** (2015). Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Étude in vitro.
- **Lien,E ,Ren, S., Bui, H, Wang, R** (1999). "Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants." *Free Radical Biology and Medicine* **26** (3-4): 285-294.

-M -

- **Macheix J., Fleuri A , Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR presses polytechniques
- **Manallah, A.** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *olea europaea* L.
- **Mazari K** (2009) .Eude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *Juniperus phoenicea* *Juniperus oxycedrus* L. et *Cupressus sempervirens* L. de la région de Tlemcen .
- **Masuda T, Yonemori S, Oyama Y, Takeda,Y, Tanaka T, Andoh T.** (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants. *J Agric Food Chem*, **47**: 1749-1754.
- **Mekhelfi T, Adouni K, Zaiter L, Guella G, Benayache S, Benayache F, Venskutonis, P** (2016). Antioxidant activity of extracts, cis and Trans tilirosides, and other compounds from *Thymelaea microphylla* Coss et Dur. *Der pharmacia* lettre, **8**(3):233-239.

- **Miceli N, Trovato A , Dugo P, Francesco C , Donato p, Marino A, Bellinghieri V ,Tommaso M. Barbera, Maria F. Taviano** (2009) . Comparative analysis of flavonoid Profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall From Turkey. *J. Agric. Food Chemistry* **57** (15): 6570–6577
- **Mohammedi Z** (2013). *Étude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie*. Thèse de Doctorat en Biologie, université Abou BekrBlkaid Tlemcen Algérie, Faculté des Sciences Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire Laboratoire des Produits Naturels ,170 P.
- **Modnicki D , Balcerek M.** (2009). "Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. commercial samples." *Herba Polonica* **55** (1): 35-42.

-N -

- **Naas néé Zerrouki** (2009). Contribution à l'étude phytochimique de la plante *tetraclinis articulata* activité biologique et biochimique de la plante .mémoire de magister chimie organique, université d'Oran faculté des sciences département de chimie ,102P
- **NICHANE, M** (2015). Contribution à l'étude du dépérissement du Cyprés vert (*Cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen).

-O -

- **Ouahes, C.** (1988). Mise au point d'une méthode de dessalement solaire à rendement élevé, Thèse de Doctorat Es-Sciences Physiques, USTHB, Alger.

-P -

- **Padilla, M.,Z. S. Ahmed, et al.** (2005). "En Méditerranée: sécurité alimentaire quantitative mais insécurité qualitative." CIHEAM, Paris.
- **Paris M., Hurabiell M.** (1981). Plantes à hétérosides anthocyaniques. Edition: Masson. P: 326
- **Peronny, S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*), Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.

- **Pontopiddan A** ,2000 les cyprés .Edition A et sud

-Q -

- **Quézel P, Santa S**(1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, **8** : 581.965.

-R -

- **Riberau-Gayon P** ,1968. Les composés phénoliques des végétaux. Edition: Dunod.243 p.
- **Riom C. (2010)**. Le Cupressus sempervirens: approche du concept du pollinier sentinelle nantais. Thèse de doctorat .

-S-

- **Saha S, Subrahmanyam E., Kodangala., Shastry, S.** (2011). Isolation and characterization of triterpenoids and fatty acid ester of triterpenoid from leaves of *Bauhinia variegata*. *Der Pharma Chemica*, **3** (4), 28-37
- **Sarni-Manchado P, Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Techniques & documentation
- **Scimeca, D.and M. Tétau** (2005)."Votre santé par les huiles essentielles." AlpenEditionssam Paris: 45.

-T –

- **Temel J, Greer S, Muzikansky A, Gallagher E ,Admane S, Jackson V, Billings J.** (2010). Early palliative care for patients with metastatic non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine* **363** (8): 733-742.

-W–

- **Waksmundzka-Hajnos, M., Kowalska T,Sherma, J.** (2008). Thin layer chromatography in phytochemistry, CRC Press.
- **Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., Chen F,**( 2006). A systematic survey of antioxidantActivity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, **97**:705-711

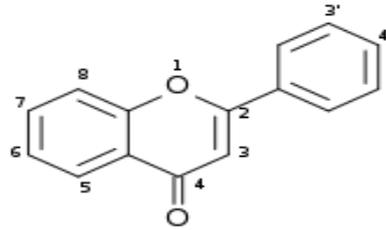
-Y–

- **Yrjonent T, (2004).** Extraction and planar chromatographic separation techniques of analysis of natural products. Conference Room513 at ViikiInfocentre Viikinkaari11), Faculty of phamacie of the University of Helsinki. 64 p.

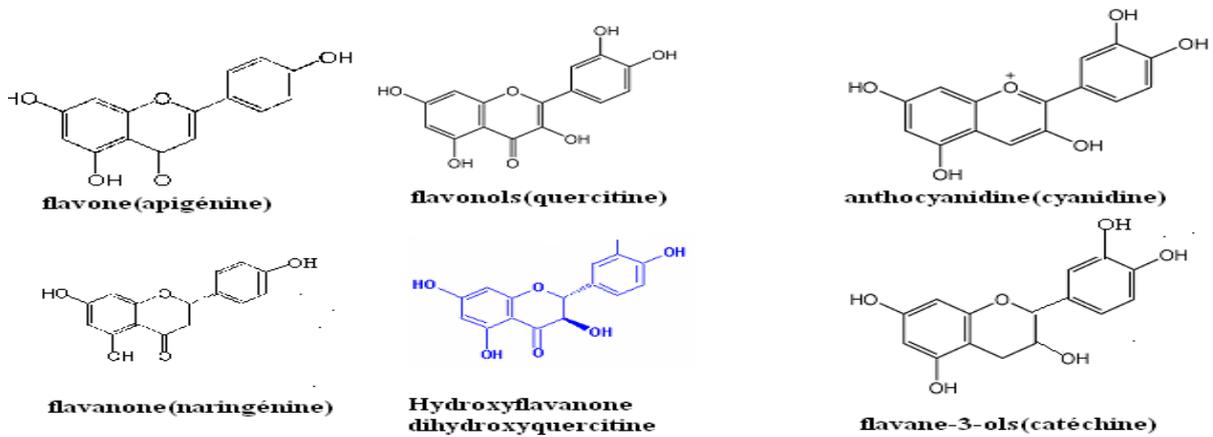
-Z-

- **Zerrouki K. (2009).** L'effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la neurotoxicité et les maladies neurodégénératives dues aux métaux lourds (aluminium et plomb)

## Annexe 1:



**Figure :**Structure de base des flavonoides ( Sarni-Manchado *et al.*, (2006).



**Figure :** Structure de quelques flavonoides( Sarni-Manchado *et al.*, 2006).

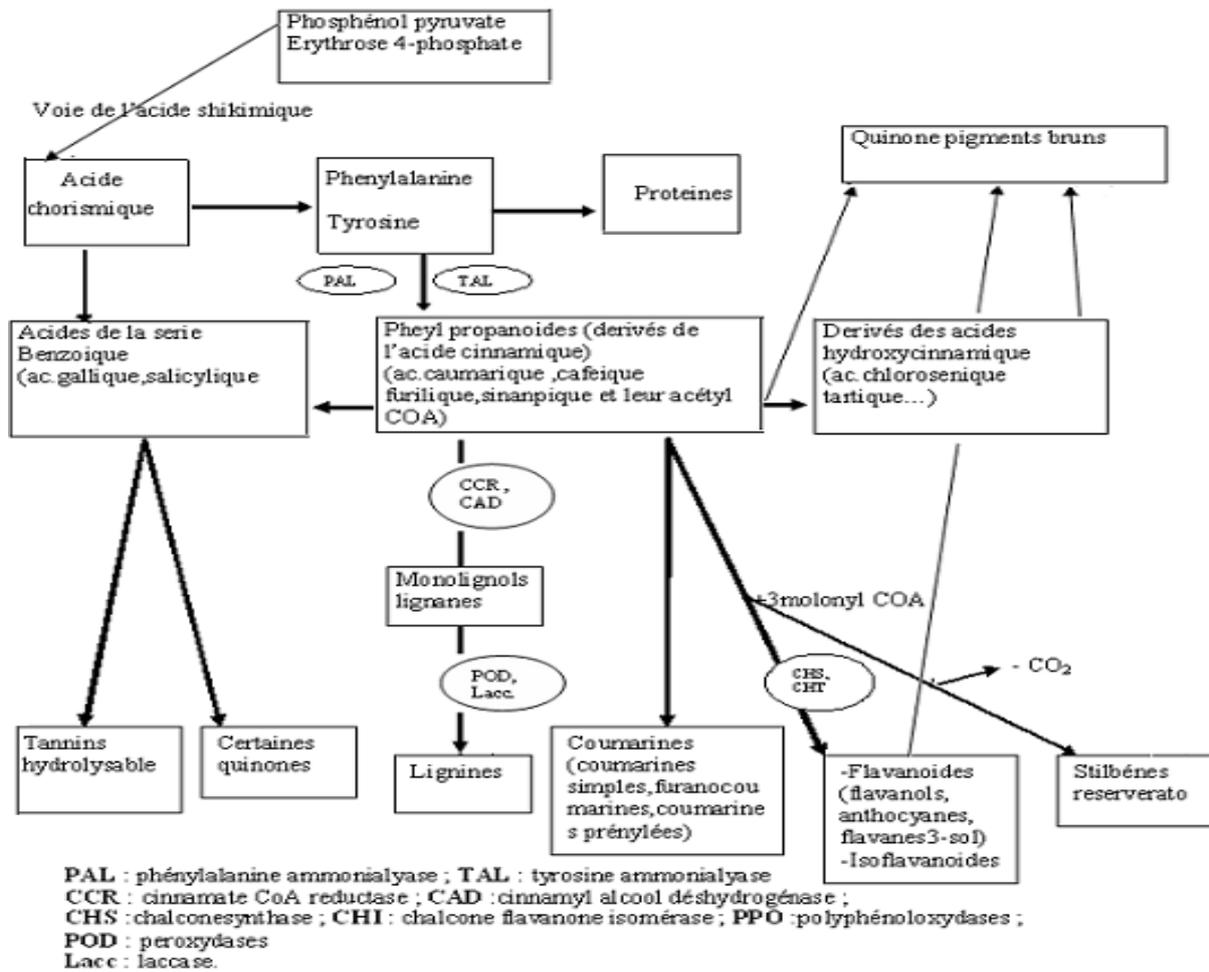


Figure 12 : Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques.

Figure : Les grandes lignes de la biosynthèse des composés phénoliques .

**Annexe 2:****Tableau :** Les teneurs en polyphénols totaux des extraits des plantes

La teneur en polyphénols (mg EAG /gMV)		
La plante	Méthode macération	Méthode Soxhlet
<i>Daphné gniduum</i>	97,5 ±3,181	38,75±1,697
<i>Thymelaea hirsuta Endel</i>	288,75±10,606	116,25±5,303
<i>Cupressus sempervirens l</i>	343,5 ± 2,121	69,745±0,530
<i>Juniperus communis l.</i>	132±3,181	69,745±0,883

**Tableau :** les résultats de l'activité antioxydante de *Daphné gniduum L.*

Type de la plante	<i>Daphné gniduum L.</i>					
La concentration (µg/mL)	0	25	50	100	150	
Le pourcentage d'inhibition (Macération) (%)	0	39,24	49,15	47,41	56,05	
Le pourcentage d'inhibition (Soxhlet) (%)	0	80,77	85,73	87,56	91,85	
écartype (Macération)	0	0,049	0,21	0,41	0,07	
écartype(Soxhlet)	0	0,21	1,11	2,7	0,91	
La concentration standard (µg/mL)	0	2	4	6	8	10
Le pourcentage d'inhibition (%)	0	48,95	89,92	91,62	92,4	92,67

(Moyenne+l'écartype).

**Tableau :** les résultats de l'activité antioxydante de *Thymelaea hirsuta Endel.*(Moyenne+L'écartype).

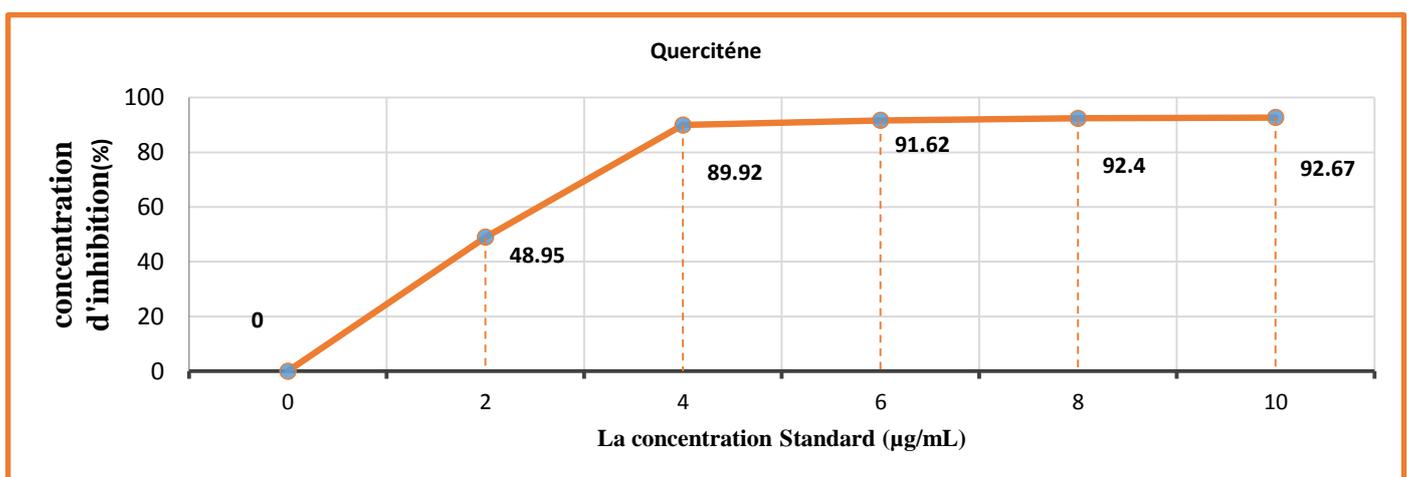
Type de la plante	<i>Thymelaea hirsuta Endel.</i>					
La concentration (µg/mL)	0	25	50	100	150	
Le pourcentage d'inhibition (Macération) (%)	0	82,29	84,45	87,75	88,04	
Le pourcentage d'inhibition (Soxhelt) (%)	0	79	86,83	88,75	90,03	
Ecartype (Macération) (%)	0	3,09	1,38	0,6	0,44	
Ecartype (Soxhelt) (%)	0	3,09	0,81	2,12	0,81	
La concentration standard (µg/mL)	0	2	4	6	8	10
La concentration d'inhibition (%)	0	48,95	89,92	91,62	92,4	92,67

**Tableau :** les résultats de l'activité antioxydante de *Cupressus sempervirens L.*  
(Moyenne+L'écartype).

Type de la plante	<i>Cupressus sempervirens l</i>					
La concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	0	25	50	100	150	
Le pourcentage d'inhibition (Macération) (%)	0	52,36	67,77	71,41	83,07	
Le pourcentage d'inhibition (Soxhlet) (%)	0	52,4	57,05	59,24	60,2	
Ecartype(Macération) (%)	0	0,43	1,13	1,78	1,8	
Ecartype (Soxhlet) (%)	0	1,17	2,22	0,3	0,25	
La concentration standard ( $\mu\text{g/mL}$ )	0	2	4	6	8	10
La concentration d'inhibition (%)	0	48,95	89,92	91,62	92,4	92,67

**Tableau :** les résultats de l'activité antioxydante de *Juniperus communis L* (Moyenne+L'écartype).

Type de la plante	<i>Juniperus communis L</i>					
La concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	0	25	50	100	150	
Le pourcentage d'inhibition (Macération) (%)	0	77,08	86,76	88,5	92 ,29	
Le pourcentage d'inhibition (Soxhelt) (%)	0	58,19	67,08	71,26	72,65	
Ecartype (Macération) (%)	0	3,2	0,09	5,23	2,48	
Ecartype (Soxhelt) (%)	0	0 ,21	2,3	0,97	0,73	
La concentration standard ( $\mu\text{g/mL}$ )	0	2	4	6	8	10
La concentration d'inhibition (%)	0	48,95	89,92	91,62	92,4	92,67



**Figure :** Courbe de pourcentage d'inhibition de Querciténe.



## Résumé :

Notre travail a pour objectifs d'évaluer l'activité antioxydante des polyphénols de quatre plantes : *D.gniduim* L, *T.hirsuta* Endel, *J.communis* L, *C.sempervirens* L. Nous avons procédé à une caractérisation des substances bioactives par la CCM. Un dosage des phénols totaux des extraits en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu .en effet, les teneurs les plus importants en polyphénols enregistrés sont celle de l'extrait de *C .sempervirens* L ( $343.5 \pm 2.121$ ,  $69.745 \pm 0.530$  mg EAG/Gmv). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH, cette activité a été observée dans tous les extraits étudiés. Les résultats indiquent que le meilleur pouvoir antioxydant est obtenu généralement avec la méthode de soxhlet que macération , c'est l'extrait de *T. hirusta* Endel qui a un pouvoir antioxydant le plus puissant IC50% (12µg/ml).

**Mots clé :** *Daphné gniduim*, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L , polyphénols ,Soxhlet ,Macération, CCM ,activité antioxydant, DPPH.

## Abstract :

The objective of our work was to evaluate the antioxidant activity of the polyphenols of four *D.gniduim* L, *T. hirsuta* Endel plants, *J. communis* L, *C.sempervirens* L, we proceeded to a characterization of the bioactive substances by the CCM. . A determination of the total phenols of the extracts using the Folin-Ciocalteu reagent.in fact, the most important contents of polyphenols recorded are that of the extract of *C. sempervirens* l ( $343.5 \pm 2.121$ ,  $69.745 \pm 0.530$  mg EAG / gMV).The antioxidant activity was evaluated using the DPPH free radical reduction method, this activity was observed in all extracts studied. The results indicate that the best antioxidant power is generally obtained with the soxhlet method that maceration, it is the extract of T. hirusta Endel which has a more powerful antioxidant power IC50% (12µg / ml).

**Key words:** *Daphné gniduim* L, *Thymelaea hirsuta* Endel, *Juniperus communis* L, *Cupressus sempervirens* L, polyphenols, Soxhlet, Macération, TLC, antioxidant activity, DPPH.

## ملخص :

إن عملنا يهدف إلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة لمتعدد الفينولات المستخلصة من نبات لزاز، مثنان وعرعر شائع، السرو، وقد حاولنا أثناء دراستنا هذه معرفة مكونات هذه المركبات الحيوية باستعمال CCM. تم العثور على تحديد الفينول الكلي من الكواشف Folin-Ciocalteu في أهم محتويات البوليفينول المسجلة في مستخلص *C sempervirens* ( $343.5 \pm 2.121$   $69.745 \pm 0.530$  mg EAG / gMV). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الحد من الجذور الحرة DPPH. وتشير النتائج إلى أنه يتم الحصول على أفضل قوة مضادة للأكسدة باستخدام طريقة سوكليت، وهي مادة مستخلصة من مثنان التي لها قوة مضادة للأكسدة أكثر قوة بنسبة IC50 % 20 (ميكروغرام).

**الكلمات الدالة:** لزاز، مثنان و عرعر شائع، السرو ، متعددة الفينولات، القوى المضادة للأكسدة، CCM، سوكليت، نقاعة.