

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
20 أوت 1955 - سكيكدة

جامعة UNIVERSITE 20
AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière: Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Biochimie Appliqué

Intitulé

**Recherche in-vitro du potentiel antioxydant
des extraits de Pulicaria odora L.**

Présenter par: Boughazi Soumia

Béeriche Cheima

Toutaou Manel

Yabram Marwa

Membre de jury:

Meme Laouar

Président

Université

Mr .A.Basli

Directeur de mémoire

Université

Melle .L.Melahi

Examineur

Université

Année universitaire 2021/2022

Remerciement

*On remercie **dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire*

*D'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de l'encadrement du **docteur A. Basli**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel pour sa patience, et sa disponibilité durant notre préparation de ce Mémoire*

*Nos remerciements d'adresse également tous nos **professeurs** pour leur générosité et leur grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charge **académiques et professionnelles***



Dédicace

*Une grand-mère est une histoire vivante de la famille, est
sa force infailible.*

*Il n'y a pas de formule plus vraie, plus appropriée pour
définir ma grand-mère, elle nous a donné tant d'amour
tout au long de sa vie et nous espérons lui avoir rendu
comme elle le méritait. Elle nous a quitté, mais cet amour
est toujours présent et aussi fort. Chaque souvenir est
ancré au plus profond de nous. et sa voie, gravée à jamais.*

*Merci grand-mère de nous avoir donné cette force et ce
courage dont tu nous parlais tant. Merci d'avoir fait de
notre famille, une équipe soudée et unie*

Boughazi Soumia

*Je dédie ce mémoire
A ma très chère mère
Quoi que je fasse ou que je dise, ne saurai point te remercier
comme il se doit.*

*A mon très cher père
Pour son soutien, son affection et la confiance qu'il
m'accordé*

*A mon frère et ma sœur
Ibrahim EL Khalil et Ryma*

Ames tantes

Rachida et Rabiha

A mes oncles

Salah, Fouzi Fethi, et Mehdi

A mes meilleures amies

Imène Bleharfi et Cheïma Béreriche

Mes collègues

Toutaou Mennel et Marwa Yubram

Aux anges qui me donne de l'énergie positive

Ghofrane, Sidra et surtout Maher

Boughazi Soumia

Dédicace:

Je remercie Dieu , qui ma permis de mener a bien ce travail

Tout d'habord je tiens surtout aadresser mes plus remerciements a mon encadreure de mémoire , Monsieur Basli AbdAlkader qui ma fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction , pour sa grand patience , pour sa disponibilité et ses conseils judicieux

Je tiens a remercier aussi Monsieur Boudjeleb professeur et chef département dans l'université 20 Août 1955

A mon chérepèreManssaf et la meilleure maman du monde Fatíha je les remercie jusqu'a la fin a leuresoutien , leurs encouragement , leurs patiences et tous les mots ne suffisent pour exprimer ma gratitude et j'espère qu'il seront fière de moi

A mes chères sœurs : Assma ,Romíssakhadíja , Amaní pour votre encouragement permanent et votre soutien moral

A mes chers frères: Mohamed , Mouad , Abd Raouf et mon petit frère majd pour votre appui et encouragement

A mes collègues : Manel ,soumaía , et chaíma

A tous ceux qui m'ont aidée de prés ou de loin a la réalisation de ce travail

«Yabram Marwa »

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU, de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A mes chers parents : ma mère et mon père pour Leur patience, leur amour, leur soutien et leur Encouragements.

A mon frère : Samír.

A mon oncle : Abd el hafide.

A mes tantes : Hayat, Fatíha, et Sakína, Dieu repose son âme.

A mes meilleures amies : Soumía, Manel.

A mon voisines : Dalíla et son mari.

Son oublier tous les professeurs que ce soit primaire, du moyen, Du secondaire, ou de l'enseignement supérieur.

Puisse Dieu vous donne Santé, Bonheur, Courage, et Surtout Réussite.

« Béeríche Chaíma. »

Dédicace:

Je tiens remercier en premier dieu le tout puissant qui m'a donné le courage et la patience et qui a éclairé mon chemin et pour m'avoir aidé durant toute ma vie.

J'ai le grand plaisir de dédier ce mémoire à tous ceux qui me sont chères :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui m'a donné le courage pour continuer mon trajet d'étude avec ses précieux conseils : mon chère père que Dieu lui fasse miséricorde «**TOUTAOU AHMED**»*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère «**NADIA**»*

*A ma chères sœurs et mon Chers frères : **AYMEN, LOUBNA, HANENE, ISSAM EL-DINNE***

*A ma chère grande mère «**DJAMILLA**»*

*A mon fiancé «**WALID**» pour sa compréhension, ses encouragements pendant toutes mes années universitaires.*

*Ma plus profonde affection à mes amies : **RADJA.F, MARWA.Y, CHAIMA.B, SOUMIA.B***

*A toute ma famille: **TOUTAOU et ZAGHIB***

Je le dédie à toute la promotion de 2ème année Master Biochimie appliquée (2021-2022)

« Toutaou Manel »

Sommaires

Liste des tableaux

Liste des figures

Nomenclature

Introduction générale 01

Chapitre I : Phytothérapie et plante médicinale

I. Phytothérapie et plante médicinale.....02

I.1. La Phytothérapie 02

I.1.1. Définition 02

I.1.2. Les limites de la phytothérapie 02

I.1.3. Les avantages de la phytothérapie 03

I.1.4. Les risques de la phytothérapie.....03

I.2. Les plantes médicinales 04

I.2.1. Définition..... 04

I.2.2. La culture et la conservation..... 04

I.2.3. La culture à la maison..... 04

I.2.4. Les différentes formes d'utilisation des plantes médicinales.....05

I.2.5. Les différentes modes de préparation médicinales05

I.3. La plante étudiée : Pulicaria odora L.....06

I.3.1. Définition06

I.3.2. Description biologique.....06

I.3.3. Taxonomie.....07

I.3.4. Utilisation thérapeutique traditionnelle.....07

Chapitre II : métabolites secondaires

II.	Les métabolites secondaires.....	09
II.1.	Définition.....	09
II.1.1.	Les classes chimiques des métabolites secondaire.....	09
II.1.2.	Les composés phénoliques.....	09
II.1.2.1	Définition.....	09
II.1.2.2	Classification des polyphénols	09
II.2.2.1	Polyphénols simples	10
II.2.3	Les sources naturelles des polyphénols	11
II.2.3.1.	La biosynthèse des polyphénols.....	11
II.2.3.1.1.	La voie de biosynthèse principale.....	11
II.2.3.1.2.	La voie de l'acétate malonate.....	11
II.2.4.	Les flavonoïdes.....	12
II.2.4.1	Les flavanones	12
II.2.4.2	Les flavanols.....	13
II.2.4.3.	Flavan-3ols.....	14
II.2.4.4.	Anthocyanidines.....	14
II.2.5	Alcool phénolique.....	15
II.3.	Polyphénols complexes (tanins).....	15
II.3.1.	Tanins hydrolysables.....	15
II.3.2.	Tannins condensés.....	16

Chapitre III : stress oxydatif

III.1. Définition.....	16
III.2. Les radicaux libres.....	16
III.3. Espèces réactives de l'oxygène.....	16
III.4. Rôles physiologiques.....	17
III.5. Les anti-oxydants.....	17
III.5.1. Les types des antioxydants.....	17
III.5.1. Les types des antioxydants.....	17
III.5.1.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	17
III.5.1.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	18
III.5.1.2.1. Systèmes antioxydants exogènes.....	18
III.5.1.3. Sélénium.....	19

Chapitre IV : matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes.....	20
IV.1. Matériel	20
IV.1.1. Matériel végétal.....	20
IV.1.2. Pulicaria odora.....	20
IV.1.3. Méthodes	20
IV.1.3.1. Extraction des polyphénols totaux par macération dans le méthanol	20
IV.1.4. Dosage des polyphénols totaux.....	21
IV.1.5. Dosage des flavonoïdes.....	23
IV.1.6. Activité antioxydante.....	24
IV.1.6.1. Le test de piégeage du radical DPPH	25
IV.1.6.2. Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP).....	25

Chapitre V : Résultat et discussion

V.	Résultat et discussions.....	26
V.1.	Rendement d'extraction des polyphénols.....	26
IV.2.	Dosage des composés phénoliques.....	26
IV.2.1.	Dosage des polyphénols.....	26
V.2.2.	Teneur des polyphénols.....	27
V.3.	Evaluation de l'activité antioxydant.....	27
V.3.1.	Evaluation de pouvoir antiradicalaire par DPPH.....	27
V.3.2.	Evaluation de pouvoir réductionnelle FRAP.....	30

Conclusion et perspective

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau 1 : la position systématique de la plante Pulicaria Odora.....	07
Tableaux 2 : caractéristique de l'extrait phénolique obtient par macération.....	26
Tableaux3 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en µg /ml))	29

Liste des figures

Figure 1 : Photo Personnelle de Pulicaria Odora. L	07
Figure 2 : la distribution géographique de Pulicaria Odora.....	09
Figure 3 : la structure de base de l'acide phénolique.....	08
Figure 4 : stature de base de l'acide benzoïque.....	10
Figure 5 : structure de base de l'acide hydroxycinnamique.....	11
Figure 06 : Squelette de Base des Flavonoïdes	12
Figure 07 : structure des flavanones.....	12
Figure 08 : structure de Les flavanols.....	13
Figure 09 : structure de base de Flavan-3ols.....	13
Figure 10 : structure de base d'Anthocyanidines	14
Figure 11 : tanins hydrolysables	14
Figure12 : la formation des radicaux libres	16
Figure 13 : Pulicaria Odora	20
Figure 14 : macération extraction solide/liquide	21
Figure15 : filtration de l'extrait méthanolique	21
Figure 16 : Structure de base du radical libre	24
Figure 17 : dosage des polyphénols	26
Figure18 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique	27
Figure19 : Dosage de flavonoïde	27
Figure 20 : : Courbe d'étalonnage à quercétine.....	28
Figure 21 : : le virement de la couleur de radical libre DPPH après 30 mn d'incubation.....	28
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH.....	29
Figure 23 : le changement de coloration de l'extrait traité par la méthode de FRAP	30
Figure 24 : pouvoir réducteur de l'antioxydant standard et l'extrait P.O testé	31

Nomenclature

- μ : micron
- C° : degré Celsius
- Cm : centimètre
- mm : millimètre
- GBIF : Global Biodiversité Information Facilité
- C : carbone
- % : pourcentage
- mg : milligramme
- mg /L : milligramme par litre
- mg/g : milligramme par gramme
- ERO : Espèces réactives de l'oxygène
- O₂ : Oxygène
- RO• : radicaux hydroxyle
- ROO• : peroxyde
- NO• : monoxyde d'azote
- UV : Ultraviolet
- X : X-ray
- NO_x : Oxyde d'azote
- Se : sélénium
- SOD :
- β : Beta
- R : le rendement
- g: gramme
- μ l : microlitre
- nm: nanomètre
- PPT : polyphénols totaux
- T : Total des composés
- C : Concentration
- V : Volume
- M : Poids

Nomenclature

- FRAP : ferricyanure de potassium ($K_3[Fe(CN)_6]$).
- DPPH : 1,1 - diphenyl - 2 – picrylhydrazyl
- PI : Le pourcentage de neutralisation
- ADS: la densité optique
- pH : potentiel hydrogène
- min : minute
- rpm : révolutions per minute
- ug/ml : microgramme par millilitre
- AG : Acide gallique
- $AlCl_3$: chlorure d'aluminium
- mg /g : milligramme par gramme
- IC50 : concentration inhibitrice à 50%
- Fe : Fer
- DO : densité optique

Au travers des âges , l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que , nourriture , abris , vêtements et aussi pour ses besoins médicaux . Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (SVOBODA et SVOBODA ; **2000**) . De nos jours, nous comprenons de plus en plus , que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires . Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (BOURGAUD et al ; 2001, KAR ; **2007**) . Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25 % des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées , dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90 % du traitement médicaux . Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75 % de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (KAR; **2007**) . Nos plante *Pulicaria odora* est connue pour leur richesse en métabolites secondaires aussi leur activité biologique. Vu l'importance de l'espèce dans le domaine pharmaceutiques, nous a incité à étudier cette plante.

I. Phytothérapie et plantes médicinales

I.1. La Phytothérapie

I.1.1. Définition :

D'après Larousse le terme phytothérapie signifie le traitement ou la prévention des malades par l'usage des plantes.

Ce mot vient du grec *phuton* qui signifie « plante » et *therapeia* qui signifie « traitement ». C'est la technique des soins qui utilise les source botanique et l'extrait des plantes pour traiter une maladie (**Caoline Gayat**). Il existe plusieurs types de phytothérapie :

- **L'aromathérapie**

L'aromathérapie est une discipline utilisant les huiles essentielles provenant de plantes dites « aromatiques ». C'est une méthode naturelle (**Wichtl & Anton, 2003 ; Ricard, 2013**). On appelle une huile toute un liquide aromatique issu de plantes. On l'extrait de certains organes fleurs feuilles. L'aromathérapie est beaucoup plus puissante, car une huile essentielle est beaucoup plus concentrée en composés actifs qu'une tisane (**Danièle Festy**).

- **La gemmothérapie** : la gemmothérapie utilise les jeunes tissus dans la plante les bourgeons riches en substance pharmacologiquement actives (**Schaller, 2015**), Qui vont jouer un rôle de protection de notre métabolisme (**Laurine pineau**)
- **L'herboristerie** : c'est la méthode la plus classique dans la phytothérapie, qui consiste dans la préparation de la plante par des méthode simple telle que l'infusion ou la macération, le plus souvent à base d'eau. (**Besancon, 2012**).
- **Phytothérapie pharmaceutique** : c'est la préparation des médicaments ou des tisanes a la base des produit végétales obtenus par extraction qui sont dilués dans l'alcool ou un autre solvant. (**Strang., 2006**).

I.1.2. Les limites de la phytothérapie

Soyez vigilant sur la qualité et la quantité de plantes à utiliser, car il existe des contre-indications. Par exemple, le millepertuis ne doit pas être consommé pendant un traitement antidépresseur, une thérapie cardiaque ou une trithérapie. Aussi, il est généralement déconseillé aux femmes enceintes de prendre la plante (à une ou deux exceptions près), car aucune donnée n'est disponible pour garantir son innocuité pendant cette période. Dans tous les cas, n'hésitez pas à demander conseil à un expert.

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales

Ainsi, les pharmaciens et les médecins généralistes restent les interlocuteurs privilégiés des Français. Ce sont des acteurs de santé privilégiés pour s'assurer qu'il n'y a pas de maladies graves ou d'éventuelles interactions avec d'autres traitements que le patient prend actuellement. Les guérisseurs de plantes, les naturopathes, les homéopathes et les herboristes peuvent également vous orienter vers **(Dr Jesus Cardenas ;2009)**

I.1.3. Les avantages de la phytothérapie

- La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite **(Iserin et al., 2001)**.
- Les plantes médicinales et les médicaments à base de plantes inscrits dans la Pharmacopée française peuvent être utilisés sans l'intervention d'un médecin. **(Jesus Cardenas ; 2019)**
- Lorsque les principes actifs sont connus, il est souhaitable de normaliser leur dosage par des méthodes validées, comme cela est fait pour les médicaments à base de plantes. Cela permet d'obtenir un maximum de bénéfices thérapeutiques avec un minimum de risques, sachant que, si beaucoup de plantes n'ont pas d'effets secondaires lorsqu'elles sont utilisées à des doses connues et normalisées, certaines ont des effets toxiques pouvant être graves, même à faible dose.

I.1.4. Les risques de la phytothérapie

- Un article publié en 2013 par **Posadzki P. et al** présentant une vue d'ensemble de 50 revues systématiques concernant 50 plantes médicinales différentes, en s'intéressant à leurs effets indésirables : la plupart des plantes médicinales évaluées dans ces revues systématiques étaient associées à des effets indésirables mineurs ou modérés.
- D'après **Gayet, (2013)** la prise simultanée de plantes médicinales et de médicaments peut entraîner l'interaction des deux remèdes et l'apparition d'effets secondaires, parfois graves. Les personnes qui sont sous médication (extraits thyroïdiens, insuline et antidiabétiques oraux, statine hypocholestérolémiantes) doivent le signaler pour adapter l'heure de prise et éviter les interactions
- Le manque de preuves scientifiques n'est pas en faveur de l'efficacité de phytothérapie, la plupart des déclarations concernant les effets thérapeutiques sont faits par des praticiens eux-mêmes. Beaucoup d'entre eux n'ont pas été vérifiés scientifiquement. Le diagnostic souvent imprécis, le moyen de diagnostic connu est l'odorat, apparition des symptômes, tests d'efficacité non connus, interrogation des esprits et ancêtres chez certaines religions. Ainsi que, le dosage des produits est

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales

arbitraire et imprécis. De même les méthodes de préparations sont non hygiéniques (Sofowora, 2010)

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définition

Ce sont des plantes et des herbes qui contiennent un certain nombre de substances actives qui ont un effet thérapeutique ou médicinal contre une maladie. C'est-à-dire qu'une plante médicinale contient dans une ou plusieurs de ses parties des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme matières premières pour la formation de médicaments efficaces pour prévenir, atténuer ou traiter des maladies.

Environ 35000 espèces de plantes sont utilisées dans le monde à des fins médicinales (Zahalka J., 2005).

I.2.2. La culture et la conservation

La culture des plantes médicinales utilisées pour des préparations magistrales en pharmacie ou pour la fabrication de médicaments à base de plantes est soumise à des règles très strictes. Le choix des lieux, les conditions de culture, les soins à prodiguer aux plantes, la récolte et les conditions de conservation et de stockage sont rigoureusement contrôlés par les autorités sanitaires et agricoles.

I.2.3. la culture à la maison

Pour cultiver des plantes médicinales chez vous, vous devez suivre les conseils suivants, un minimum de :

- Bon sens et de précautions sont à prendre en considération avant de vous lancer dans la culture.
- Consultez des documents et demandez conseil à une personne ayant de l'expérience dans ce domaine comme un botaniste ou pharmacien afin de choisir les bonnes plantes.
- Vous pouvez les cultiver chez vous soit dans des pots soit dans votre jardin.
- Assurez-vous que la terre est dépourvue de contaminants ou agents potentiellement toxiques (préférez une terre certifiée bio) choisissez des endroits à l'abri d'éventuels déchets animaux, (un animal de compagnie). L'exposition au soleil.
- La période de l'année pour la culture et la cueillette est également importante afin d'obtenir un meilleur rendement et une qualité optimale

I.2.4. Cueillette en pleine nature

Les aliments sauvages, incluant ce que nous appelons les « mauvaises herbes », contiennent une très grande concentration de nutriments et phytonutriments et peuvent aider à diversifier notre

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales

alimentation. Il est essentiel de bien identifier et avec certitude l'espèce récoltée. Cela passe par une bonne connaissance des plantes toxiques de la région, et des confusions possibles

Il faut d'accepter quelque règle pour récolter les plantes médicinales

- S'assurer d'avoir identifié la plante ou le champignon
- Ne pas cueillir dans des endroits pollués
- Ne pas cueillir dans les parcs nationaux ou les endroits protégés
- Respecter la population et cueillir seulement ce dont vous avez besoin, jamais la colonie au complet.
- Ne pas cueillir les espèces menacées, vous devez pour cela vous informer localement.
- En cas de doute, adressez-vous aux paysans, botanistes, herboristes, et pharmaciens spécialisés de votre région. (*LAROUSSE des plantes médicinales*)

I.2.4. Les différentes formes d'utilisation des plantes médicinales

- **La plante fraîche** : l'avantage de cette technique est que certains principes actifs sont plus actifs dans la plante fraîche que sèche. Mais rarement des plantes fraîches à disposition pour se soigner ! À l'état frais hors de leur saison
- **La plante sèche** : l'avantage de cette forme est moins riche en eau, elle est plus concentrée en principes actifs.
- **Huile essentielle** : cette mode assure la préservation de certains composants volatils. (**Caroline Gayet.,2013**)

I.2.5. Les différents modes de préparation médicinales :

- **L'infusion** : Consiste à verser les plantes dans l'eau bouillante, un temps plus ou moins long, trois à dix minutes. Elles sont réservées aux fleurs fragiles, aux plantes fortement aromatiques, aux graines mucilagineuses. (**Pierre & Lys, 2007**).
- **Décoction** : Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long. Deux ou trois minutes pour tiges, les feuilles, les fruits, cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines. (**Pierre & Lys, 2007**).
- **Macération** : Le liquide de macération peut être l'eau, de l'alcool, du vin, du vinaigre. Pour l'eau, les plantes sont versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures, en principe). (**Pierre & Lys, 2007**).

Il existe plusieurs types de macération on cite

- **La teinture** : C'est une macération de plante sèche dans l'alcool 90° Entre 33 et 55 C°. (**Caroline Gayet**)

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales

- **Le concentré végétal** : C'est une macération de plante fraîche dans l'alcool entre 12 et 15°. Cette teneur faible en alcool permet d'extraire le maximum de principes actifs dans l'eau et l'alcool. (Caroline Gayet.,2013)

I.3. La plante étudiée : Pulicaria odora L

I.3.1. Définition :

Pulicaria odora (L.) ou *Inula odora*.L appartient à la famille des Astéracées ou Composées. *Pulicaria odora*, *Inula odorata*, du latin *pulex* : Puce (plante utilisée comme insecticide), *inula* : nom ancien d'*inula*. Du grec *inaein* : purification (suggérant des propriétés de certaines espèces) et odeur : parfumée (RAMEAU et al., 2008).



Figure 1:Photo Personnelle de Pulicaria Odora. L

I.3.2. Description biologique

D'après RAMEAU et al., (2008) :

- *Pulicaria odora* est une plante vivace de 30-60 cm ; hémicryptophyte.
- Floraison : juin à août, pollinisée par les insectes, dispersés par le vent
- Tige souterraine renflée en tubercules et couverte des feuilles écailleuses.
- Plante velue ou laineuse.
- Tige dressée, simple ou rameuse dans sa moitié supérieure.
- Feuilles alternes de forme ovale oblongue, denticulées, les inférieures
- . Grands capitules (15-25 mm) longuement pédonculé, solitaires au sommet de la tige et des rameaux, involucre à bractées velues, linéaire, acuminées ; toutes les fleurs jaunes, celles en languette étalées, dépassant longuement le disque formé par les fleurs en tubes.
- Akènes blanchâtre, velus, aigrette rousse dotée d'une couronne dentée de 10 à 12 poils 3 fois plus long que l'akène.

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales

I.3.3. Taxonomie

D'après emberge et chadefaud (1960, l'espèce *Pulicaria Odora*.L. connue en arabe sous nom « **Ouden el-Hallouf** » ou encore « ameaoughuilef » en berbère est classée selon GBIF comme suit :

Tableau 1 ; la position systématique de la plante *Pulicaria Odora*

Régné	Plantae
Sous_Régné	Viridiplantae
Infrarégné	Streptohyta
Embranchement	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dicotylédone
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asterordeae
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria odora</i> (L) .Rchb 1831

I.3.4. Utilisation thérapeutique traditionnelle

Pulicaria odora est exclusif des pathologies dermiques (gale, plaie et brûlures engelures, eczéma, Alopecie, champignon pityriasis versicolore, rougeole) (**Meddour2010**)

La fleur de la plante ; selon (**zoubeiri et AL ,2005**) nommé localement Anssif, utilisé comme épice et dans la préparation de divers aliments (**lewis et ausubel,2006**)

Les parties aériennes de cette plante ; sont utilisées comme agent antibactérien ou anti-diarrhéique (**Awwenet et AL ;2010**)

Les racines sont utilisées aussi pour leur action anti-inflammatoire (**bellakhdar,1997**)

Selon **Hussein et AL ;(2017)**, le genre *Pulicaria* comprend 100 espèces largement diffusées en Europe, l'Afrique du nord et en Asie

Chapitre I : phytothérapies et plantes médicinales



Figure 2:la distribution géographique de Pulicaria Odora

II. Les métabolites secondaires

II.1. Définition :

Les plantes produisent un grand nombre de composés dont jusqu'à il n'y a pas très longtemps, on ne connaissait pas le rôle pour la plante. (**Thierry. Sévenet**) Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent des réactions chimiques ultérieures on les appelle les métabolites secondaires (**Richter G.1993**)

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimiques de croissance et de la reproduction des plantes (**Amlan & Jyotisna, 2010**).

II.1.1. Les classes chimiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont répartis en deux classes chimiques ;

- Les composés azotés qui comprennent les alcaloïdes et les glycosides. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés.
- Les composés phénoliques ; Ils ont un groupe hydroxyle sur un cycle aromatique. Ceux sont, la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes (**Wilhelm Nultsch 1995**).

II.1.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes et les terpènes, contribuent aux caractéristiques sensorielles des aliments, il a été récemment démontré qu'ils ont une large gamme d'effet anti-microbien (**Richter G 1993**).

II.1.2.1. Définition :

On point de vue chimique les composés phénoliques sont des molécules aromatiques, formées en particulier par la voie de l'acide shikimique, le motif en base est un groupement phénol (C₆) lié à un hydroxyle (OH). (**S. Meyer**).

Les plantes disposent plusieurs voies réactionnelles pour synthétiser les cycles aromatiques des composés phénoliques, pour les plantes supérieures, elles produisent l'acide cinnamique et la structure de type flavane (**Wilhelm Nultsch 1995**).

II.1.2.2. Classification des polyphénols :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques - et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories ; les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (**Gibbs C.R. 1976**).

II.2.2.1. Polyphénols simples :

- **Acides phénoliques :**

Chapitre II : métabolites secondaires

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes μ les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (**Thompson J. C 1984**)

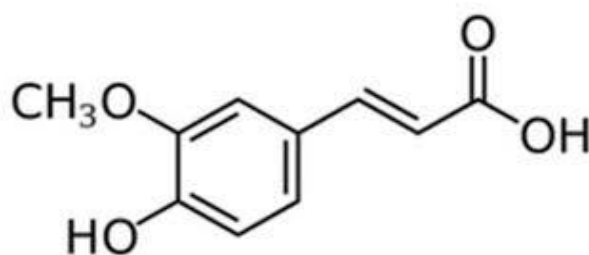


Figure 3: la structure de base de l'acide phénolique

- **Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)**

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (**Afanasev I.B et all 1989**). Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (**Murota. K et all 2004**).

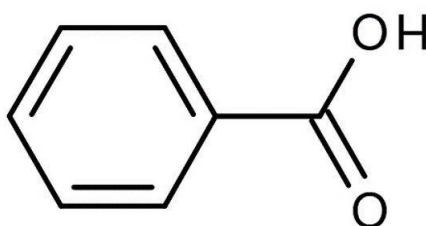


Figure 4: stature de base de l'acide benzoïque

- **Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)**

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (**Afanasev I.B et all 1989**) et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (**Thompson J. C 1984**)

L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie. Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive, pomme), en particulier dans les fruits. Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamique de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique) (**Murota. K et all 2004**). L'acide chlorogénique est présent en très forte concentration dans la pomme (430 mg/kg) (**Negre-**

Salvayre A et all) et dans le café, une seule tasse peut en contenir de 70 à 350 mg (**Murota. K et all 2004**).

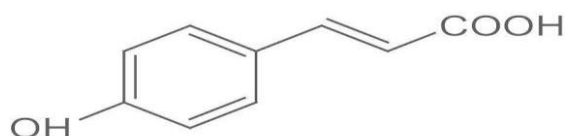


Figure 5: structure de base de l'acide hydroxycinnamique

II.2.3. Les sources naturelles des polyphénols :

D'après **Archivio et all (2007)**, notre boisson quotidienne café, thé, chocolat sont très riche en polyphénol

Les polyphénols existent aussi dans les légumes, les céréales, les fruits, les olives ... d'après la même auteurs.

II.2.3.1. La biosynthèse des polyphénols :

La biosynthèse des polyphénols nécessite la présence des hydrates de carbone via deux voies (**Chira et all ,2008**).

II.2.3.1.1. La voie de biosynthèse principale

Concerne composés aromatique (**Kening et al., 1995**) dans les organismes végétaux, et même les microorganismes y compris les acides aminés aromatique : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaire) tel que les flavonoïdes, les acide phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes. (**Ghasemzadeh, A., &Ghasemzadeh, N. (2001)**).

II.2.3.1.2. La voie de l'acétate malonate

Consiste à la cyclisation des chaînes poly cétonique, elles-mêmes obtenus par condensation de groupement acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl CoA. Chez les flavonoïdes, les anthocyanes, le cycle benzénique latéral (A) provient de l'enchaînement de 3 acétyl-CoA (**Merghem, 2009**)

II.2.4. Les flavonoïdes :

D'après **Souza R.f., (1997)** on appelle flavonoïdes tout un composé possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6). (**Souza R.f et all 1997**).

Chapitre II : métabolites secondaires

Selon LAROUSSE les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales Antioxydants. (LAROUSSE encyclopédie des plantes médicinales).

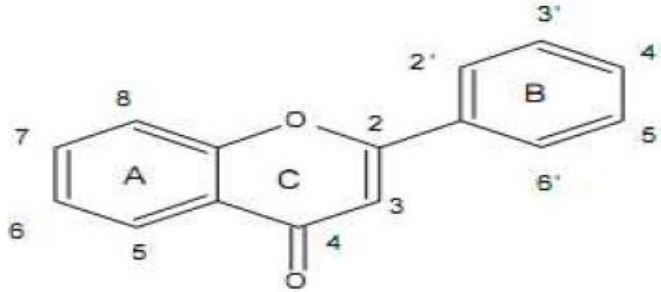


Figure 06 : Squelette de Base des Flavonoïdes(Girotti-Chanu et all., 2006)

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont

II.2.4.1. Les flavanones :

Les flavanones sont caractérisés par

- ✓ La présence d'un hétérocycle saturé à trois carbones en chaîne et un atome d'oxygène dans la C4 (Tapas et al., 2008).
- ✓ L'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2(Afanas eva et all, 2001)

Selon Murota K, et all. (2004), Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperitine dans l'orange : un jus d'orange contient entre 200 et 600 mg d'hésperitine/L

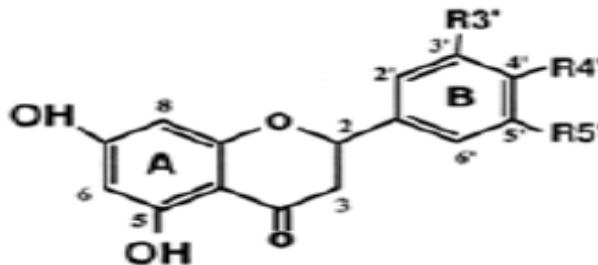


Figure 07 : structure des flavanones

II.2.4.2. Les flavanols

Les flavanols se distinguent par :

Chapitre II : métabolites secondaires

- ✓ La présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L-rhamnose (**Korkina L.G., Afanas'ev I.B. (1997)**)
- ✓ Les sources les plus riches sont les oignons (**Malešev D., Kuntić V. (2007)**).

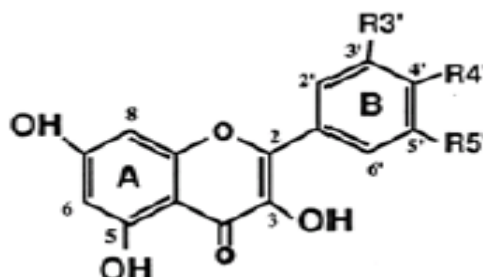


Figure 08 : structure de Les flavanols

II.2.4.3. Flavan-3ols

- Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe.
- Ces composés vont des simples monomères, (+) -catéchine et son isomère (-) -épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines.
- De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (**Afanas'eva, I.B. 2001**).
- Les catéchines sont présentes dans le chocolat, le thé et dans les fruits comme l'abricot (**De Souza, R.F et all 2003**).

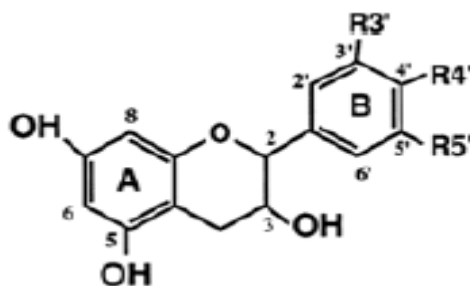


Figure 09 : structure de base de Flavan-3ols

II.2.4.4. Anthocyanidines

- Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin (**Bai Y., et all 2000**)
- Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (**Jovanovic S.V,et all 1996**).

Chapitre II : métabolites secondaires

- De nombreux glucosides de cyanidine et deux dérivés de pélargonidine ont aussi été caractérisés dans l'oignon rouge (Mira L. et all 2002)

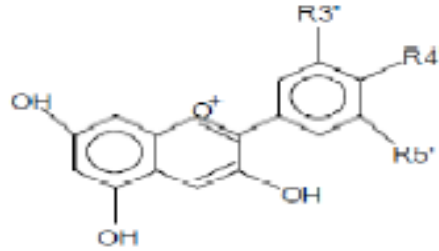


Figure 10 : structure de base d'Anthocyanidines

II.2.5. Alcool phénolique

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide linoléique (Moridani M.Y et all,2003 : Fukuzawa K et all ,2005)

Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (60 à 90 mg/g matière sèche) (Jungbluth G, et all .2009).

II.3. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (Karamac M., Pegg R.B. 2009).

Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Manach C. et all 2004), d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural,

Les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Monteiro.M et all ,2004).

II.3.1. Tanins hydrolysables :

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (MonteiroM ,2004). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (Nagata Tet all 1992)

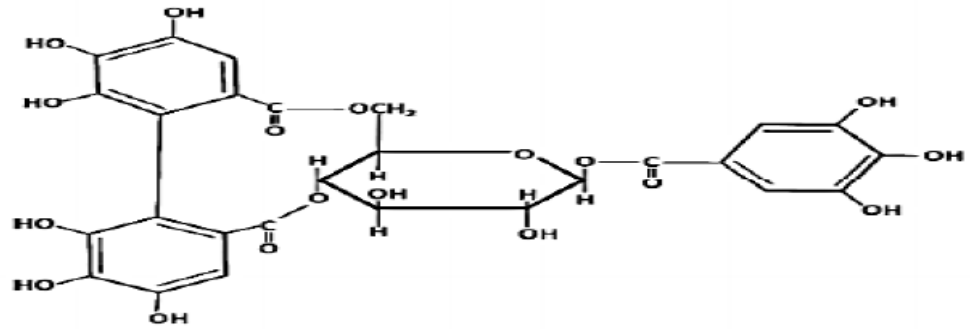


Figure 11 : tanins hydrolysables (1-O-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenyl β -Dglucose (OG β DG) (ARBENZ et al., 2015).

II.3.2. Tannins condensés :

Les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (**Monties B et all 1962**)

En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc....) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc....).

Chapitre III : stress oxydatif

III. Le stress oxydatif

III.1. Définition

Le stress oxydant ou le stress oxydatif, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Niki, 2018 ; Tu et al., 2019).

III.2. Les radicaux libres :

Un radical libre est défini comme toute molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André ,2004), cette molécule est instable et réagit rapidement avec d'autres composant, essayant de capturer l'électron nécessaire pour être stable.

Donc le radical libre est une espèce chimique, molécule ou atome, capable d'avoir une existence indépendante en contenant un ou plusieurs électrons célibataires. (Goudable J, 1997)

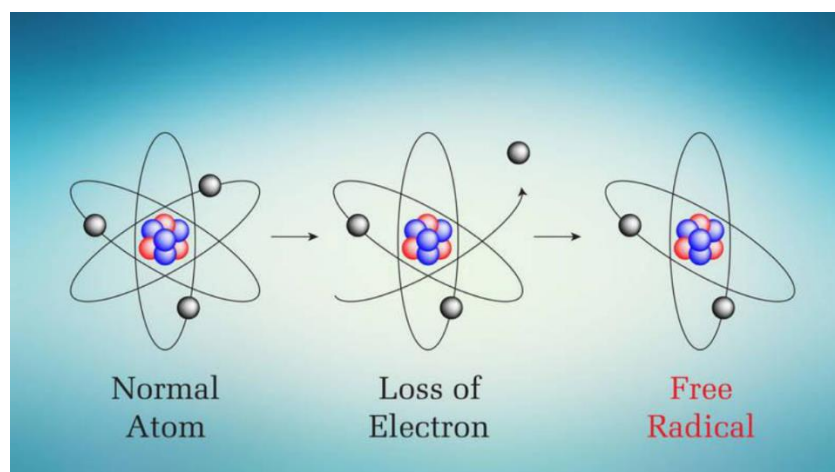


Figure12 : la formation des radicaux libres (Pilou,2014)

III.3. Espèces réactives de l'oxygène :

Les ERO sont susceptibles de participer à la dégradation des biomolécules (Dufour C., Dangles O. 2005).

Les principales ERO sont des formes réduites de O₂ : l'anion superoxyde (O₂•⁻, réduction à 1 électron), le radical hydroxyle (OH•, réduction à 3 électrons), mais aussi les radicaux hydroxyle (RO•), peroxyde (ROO•) et le monoxyde d'azote (NO•).

III.3.1. Les origines des espèces réactive réactives de l'oxygène :

a. Sources endogènes :

- La chaîne respiratoire, :(Jullian C.,2017)
- Enzymes :(Dufour C., Dangles O. (2005))

Chapitre III : stress oxydatif

b. Sources exogènes :

- Irradiation, les rayant (UV, X), (*Chat, AO et all,2013*)
- Pollution (*Roy D, et all .2012*)
- Tabac, alcool (*Zhao M, et all .2010*)

III.4. Rôles physiologiques

La production de grande quantité d'O₂·- par la NOX dans les cellules phagocytaires en cas d'inflammation représente une première barrière de défense vis-à-vis des agents pathogènes est « le burst oxydatif ». Il y a une production massive d'Eros par les macrophages, les neutrophiles activés via la NOX. Celle-ci étant également présente dans les cellules non phagocytaires, les EROs produits interviennent dans la régulation de voies de signalisations intracellulaires (**Migdal et al. 2011**).

III.5. Les anti-oxydants

Un anti-oxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**Halliwell et al. 2008**). Ils ont pour rôle d'empêcher la formation de radicaux libres, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés par les radicaux libres.

III.5.1. Les types des antioxydants

Il existe différentes sortes d'anti-oxydants : des enzymes, des facteurs de transcription, des composés de bas poids moléculaire piégeant les radicaux libres. Parmi ces derniers, on distingue le glutathion, les vitamines (A, C, E), les polyphénols, les oligo-éléments comme le sélénium (Se), le zinc (Zn) ou le cuivre (Cu) mais aussi des protéines transportant le fer (la transferrine) ou le mettant en réserve (la ferritine).

III.5.1.1. Les antioxydants endogènes

Selon Halenger cette sorte regroupe les antioxydants enzymatiques, les protéines et les systèmes de réparation oxydatifs (**Halenger al ,2007**). On distingue deux types

III.5.1.1.1. Antioxydants enzymatiques

Les enzymes qui catalysent des réactions contre les radicaux libres, (**Halengel al,2007**). Les principaux enzymes antioxydants les plus efficaces chez les Mammifères ainsi que chez les plantes sont :

Chapitre III : stress oxydatif

- La catalase (EC1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du produit dans les conditions physiologiques (Niki et al., 2007)
- Le glutathion peroxydase (EC 1.11.1.19) ce sont des enzymes tétramériques à sélénium qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion / glutathion disulfide (GSH/GSSG) (Matés et al., 1999 ; Lacolley et al., 2007).
- Les superoxydes dismutases ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde O₂^{•-} par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire: (Haleng et al., 2007)

III.5.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants issus par la voie métabolique sont des antioxydants non enzymatiques (Pham-Huyat al, 2008). Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer :

- Le glutathion est un tripeptide (Lγglutamyl-L-cystéinyl-glycine) impliqué dans de nombreux processus au niveau intracellulaire. Son rôle dans la détoxification de xénobiotique (Beaudeau & Geneviève, 2011) et dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation a été bien établi (Stamler & Slivka, 1996).
- L'acide urique est le produit de catabolisme de purines, il est présent en quantité importante dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale, il est indégradable (Lacolley et al., 2007). Mais à pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•...) (Haleng et al., 2007).
- La coenzyme Q10 appelée ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique (Haleng et al., 2007). Elle est hautement soluble dans les lipides, et se retrouve dans la quasi-totalité de la membrane cellulaire, ainsi que les lipoprotéines (Stargrove et al., 2008).

III.5.1.2.1. Systèmes antioxydants exogènes

Les antioxydants chimiques exogènes, eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

- **La vitamine C**

Appelé aussi l'acide L'ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes. Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al., 1999).

Chapitre III : stress oxydatif

Elle peut piéger directement l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le radical hydroxyle HO^{\bullet} , l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (**Evans, 2000**).

D'après le même auteur, l'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre.

- **Vitamine E**

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, cette famille comprend 4 substances (α , β , γ , δ), α -tocophérols est la forme la plus active (**Cuvelier et al., 2003**).

Elle prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO^{\bullet} (**Kaiser et al., 1990 ; Yoshida et al., 1993**)

- **β carotène**

Le β carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, qui possèdent des propriétés antioxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles HO^{\bullet} et peroxydes ROO^{\bullet} et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet 1O_2 . En outre le β -carotène, tout comme l' α -carotène et β -crypto xanthine, sont des caroténoïdes précurseurs de la vitamine A (ou rétinol) chez l'homme, de sorte que le β -carotène est une provitamine A (**Beaudeau & Geneviève, 2011**).

III.5.1.3. Sélénium

Sélénium est un élément minéral essentiel contenu à l'état de traces dans l'organisme. Il se présente sous diverses formes chimiques dans l'alimentation. Il est activement métabolisé puis incorporé de manière originale (**Roberfroid et al., 2008**). Le sélénium agit comme un cofacteur enzymatique de la glutathion peroxydase. Les aliments riches en sélénium sont notamment, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail...etc. (**Haleng et al., 2007**)

Chapitre IV : matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes :

La réalisation de nos travaux a eu lieu le 20 août 1955 au niveau du Laboratoire Universitaire de la biochimie dans le Hall de technologie, toute au long de la période allant du mois de Mars au mois de juin 2022.

IV.1. Matériel :

IV.1.1. Matériel végétal:

Ce travail a été effectué sur les feuilles de la plante médicinale : *Pulicaria odora*, ces dernières ont été récoltées afin d'étudier leurs propriétés anti - oxydante, antibactérienne après extraction des polyphénols.

IV.1.2. *Pulicaria odora* :

La plante originale de *Pulicaria odora* de la province de Skikda de la région de Beni Ouelbane (Algérie) a été récoltée en mars 2022. Après avoir récolté les feuilles des plantes *Pulicaria odora*, elles ont ensuite été séchées dans des conditions définies, à savoir température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 08 jours. Après séchage, les feuilles de la plante sont pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique et récupérées sous forme de poudre fine, délicatement conservées dans des bocaux en verre recouverts d'aluminium pour les conserver à l'abri de la lumière (Voir la figure 10).

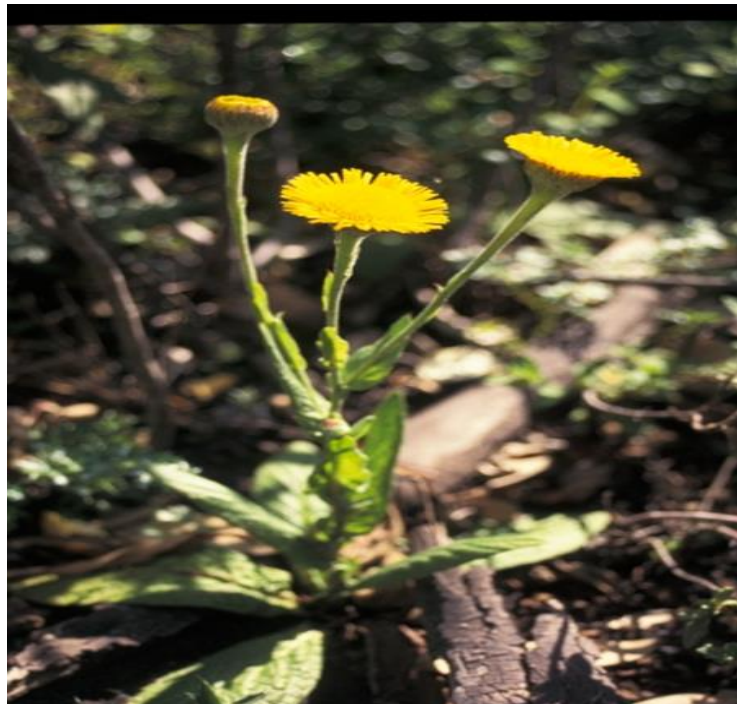


Figure 13 : *Pulicaria Odora*

IV.1.3. Méthodes :

Chapitre IV : matériel et méthodes

IV.1.3.1. Extraction des polyphénols totaux par macération dans le méthanol :

Les polyphénols totaux extraits des feuilles de quenouilles séchées se résument comme suit

- **Macération (extraction solide- liquide) :**

On prend 28.5 grammes de poudre de plantes (feuilles séchées) et on y ajoute différents volumes de différents solvants, 28.5 grammes de poudre de *Pulicaria Odora*. L sont plongés dans 114 ml de mélange 80 % de méthanol (70%) et 20% de l'eau distillé.

La macération des plantes s'effectue à température ambiante, à l'abri de la lumière et sous agitation modérée pendant 24 heures, à l'aide d'un agitateur magnétique

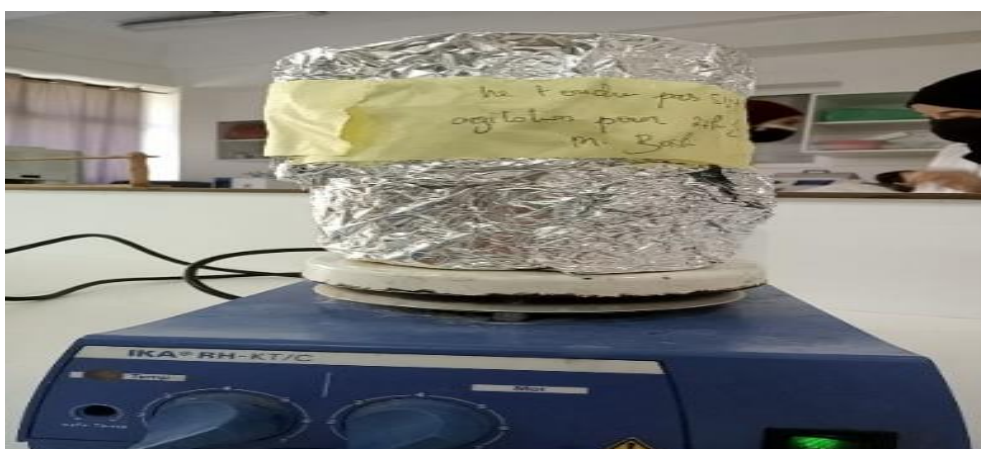


Figure 14 : macération extraction solide/liquide

- **Filtration :**

A la fin de l'imprégnation, on filtre sur papier filtre



Figure15 : filtration de l'extrait méthanolique

Chapitre IV : matériel et méthodes

- **Séchage**
, l'extrait obtenu a été séché pendant 8 jours dans l'étuve à 40 ° C, pour l'évaporation de l'eau.

- **Détermination du rendement des extraits secs :**

Le rendement désigne la masse de l'extrait (résidu sec) déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante décrite par (Mahmoudi et al., 2013)

$$R(\%) = \frac{\text{La masse de résidu sec}}{\text{La masse de départ}} \times 100$$

Où :

R : le rendement en (%)

La masse de résidu sec est en (g).

La masse de départ en (g).

- **Dilution :**

On prépare quatre tubes d'essais chaque tube contient une concentration différente à l'autre (**1 : 1/10, 2 : 1/20, 3 : 1/40, 4 : 1/80**).

IV.1.4. Dosage des polyphénols totaux :

L'estimation de la teneur en phénol totaux contenue dans l'extrait est réalisée par dosage au spectrophotomètre, selon la méthode de (Ladoh Yemeda et al. 2014). Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Folin - ciocalteu.

- **Principe :**

La méthode est basée sur une réaction redox utilisant le réactif de Folin Ciocalteu acide xanthique comme oxydant, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₂PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₂PMO₁₂O₄₀). Lors de l'oxydation des polyphénols, Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (MO₈O₂₃) en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur en polyphénols de l'extrait (Ribereau-Gayon, 1968).

- **Mode opératoire :**

Mélanger un volume de 100 µl de chaque concentration avec 500 µl de Folin Ciocalteu (10%). Après cinq minutes, ajouter 400 µl de solution de carbonate de sodium (7%). Incuber le

Chapitre IV : matériel et méthodes

mélange pendant trente minutes à température ambiante dans l'obscurité et lire l'absorbance à 375 nm sur un spectrophotomètre. Acide gallique utilisé comme étalon de référence.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage et les teneurs en PPT sont calculées selon l'équation suivante :

$$T = C. V / M$$

T : Total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait (ml) ;

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

Concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage et les teneurs en PPT sont calculées selon l'équation suivante :

$$T = C. V / M$$

T : Total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration de l'extrait équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

V : Volume de l'extrait (ml) ;

M : Poids sec de l'extrait de la plante (g).

IV.1.5. Dosage des flavonoïdes :

- **Principe :**

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre en position cinq susceptible de donner,

en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion AL^3 , la coloration Jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribereau - Gayon,1968)

- **Mode opératoire :**

La teneur en flavonoïde des extraits a été déterminée selon la méthode de (Ibrahim et Hegazy., 2012) en y apportant quelques modifications. Un volume de 1 ml d'extrait a été additionné à 1 ml de chlorure d'aluminium à 2 % (préparé dans le méthanol). Le mélange a été placé à l'obscurité pendant dix minutes puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les résultats ont été exprimés en μg équivalent de Quercitine par 1 g de matière sèche. Ces concentrations

Chapitre IV : matériel et méthodes

sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de la quercétine préparée dans l'eau (200 µg / ml).

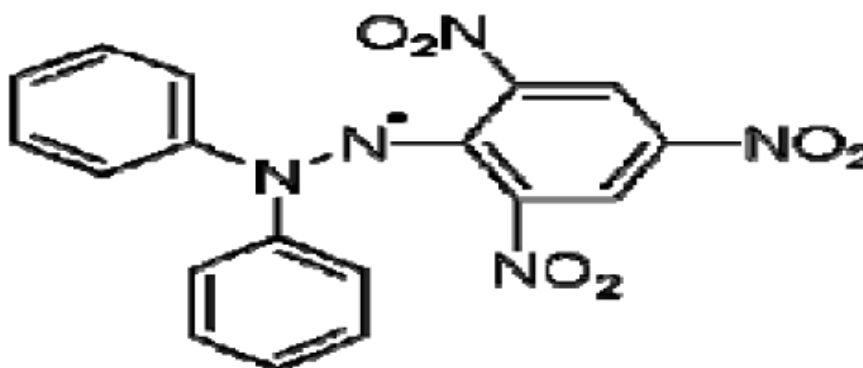
IV.1.6. Activité antioxydante :

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée selon deux tests : la réduction du fer FRAP et le piégeage du radical libre DPPH

IV.1.6.1. Le test de piégeage du radical DPPH :

- **Principe :**

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un **effet scavengers** sur le radical libre DPPH* (1,1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl). Le radical DPPH* est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti radicalaire (Milardovic *et al.*, 2006)



*Figure 6 : Structure de base du radical libre DPPH (POPOVICI *et al.*, 2009).*

- **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Seung - cheol *et al.* 2004) en y apportant quelque modification. Un volume de 1ml de différentes concentrations d'extrait est ajouté à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif ou le témoin, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 1ml du méthanol avec 1ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant trente minutes et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Des standards de référence (acide ascorbique) ont également été analysés en respectant la même

Chapitre IV : matériel et méthodes

procédure. Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{pourcentage d'inhibition} = \frac{\text{Ads témoin} - \text{Ads échantions}}{\text{Ads témoin}} \times 100$$

Où

ADS= la densité optique

Témoin= DPPH +Méthanol

Enchantions = polyphénols+DPPH

IV.1.6.2. Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP)

Ce test est basé sur la réduction du fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) (HUBERT,2006) qui se manifeste par le virage de la couleur jaune du Fe³⁺ en une couleur bleu vert du (Fe²⁺) dont l'intensité est mesurée à 700nm et proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (JAYAPRAKASH et al., 2001). Afin de réaliser le test de réduction du fer nous avons procédé comme suite :

- Préparation des dilutions de l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles sèche de la plante (*Pulicaria odora*) ainsi que du standard (l'acide ascorbique) ;
- Préparation du mélange réactionnelle qui se compose de 2.5ml de l'extrait ainsi que du standard (prélevé à partir de chaque concentration de 0.025à1mg/ml), plus 2.5µl du tampon phosphate (0.2M a pH 6.6) et 400 µl du ferricyanure de potassium à 1% ;
- Incubation dans un bain marié réglé à 50°C pendant 20min ;
- Après incubation 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés au milieu réactionnel
- Centrifugation à 3000rpm pendant 10min ;
- Puis 2.5ml du surnagent sont mélangé avec 2.5ml d'eau distillée et de 2.5ml du chlorure ferrique à 0.1% ;
- Au finale la lecture de l'absorbance a été effectuée à 700nm.

Chapitre IV : matériel et méthodes

Chapitre V : Résultat et discussion

V. Résultat et discussions

V.1. Rendement d'extraction des polyphénols :

La méthode d'extraction des polyphénols est la macération qui consiste en la libération de ces molécules bioactives vers la solution d'extraction ou le solvant organique au cours de notre travail, nous sommes réalisées une extraction méthanolique

Le résultat obtenu dont le rendement, la couleur, l'aspect sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableaux 2 : caractéristique de l'extrait phénolique obtenu par macération

Extrait	Extrait méthanolique de <i>P. Odora. L</i>
Couleur	Maron clair
Aspect	Pâte sèche
Rendement	5.536

IV.2. Dosage des composés phénoliques

IV.2.1. Dosage des polyphénols

La couleur bleue après 30 min d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif Folin-ciocalteu (**voir la figure 17**). L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le bleu foncé est fonction de la teneur en polyphénols.



Figure 7 : dosage des polyphénols

L'acide gallique (ug/ml) a été utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage

Chapitre V : Résultat et discussion

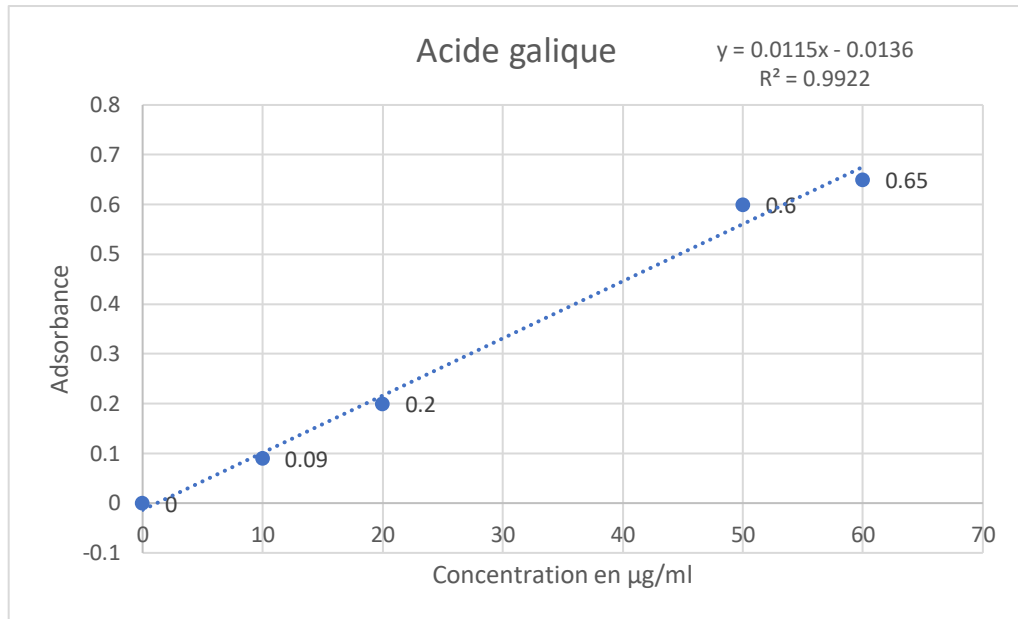


Figure18 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

- ✓ Le teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique montre le résultat suivant :
2.77mg Eq AG /g RS

V.2.2. Teneur des polyphénols

Une couleur jaunâtre est formée dans l'extrait de *P. odora* après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Voir figure 11), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans l'extrait analysé.



Figure19 : Dosage de flavonoïde

- ✓ La quercétine a été utilisé comme étalon. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage

Chapitre V : Résultat et discussion

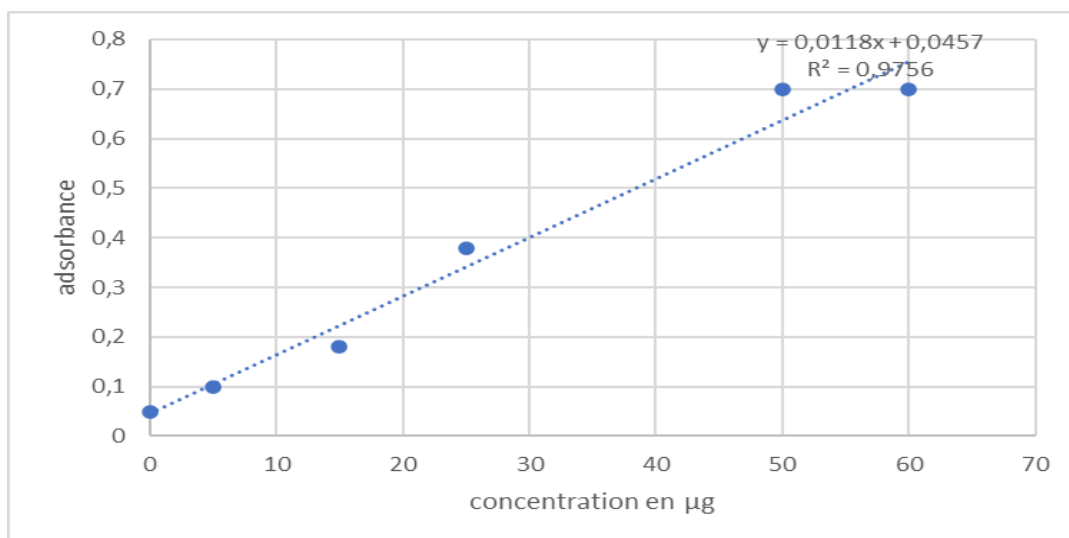


Figure 8 :: Courbe d'étalonnage à quercétine

- ✓ Le teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique montre le résultat suivant :
0.77mg Eq Q/g RS

V.3. Evaluation de l'activité antioxydant

V.3.1. Evaluation de pouvoir antiradicalaire par DPPH

La coloration violette de la solution DPPH-Extrait vire ver le jaune pâle (figure 8) dans les concentrations utilisées. Ce changement de couleur montre que le radicale libre DPPH est piégé par l'extrait. Ce qui montre aussi que les échantillons ont l'effet de scavenger de radical DPPH.

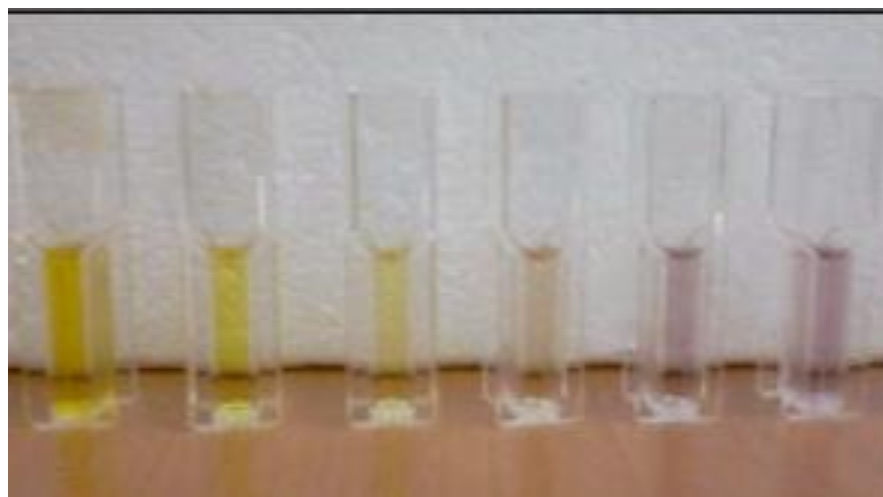


Figure 9 :: le virement de la couleur de radical libre DPPH après 30 mn d'incubation

La figure ci-dessous montre les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de concentration de l'extrait testé. Ils montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique et l'alpha-tocophérol ou pour l'extrait méthanolique

Chapitre V : Résultat et discussion

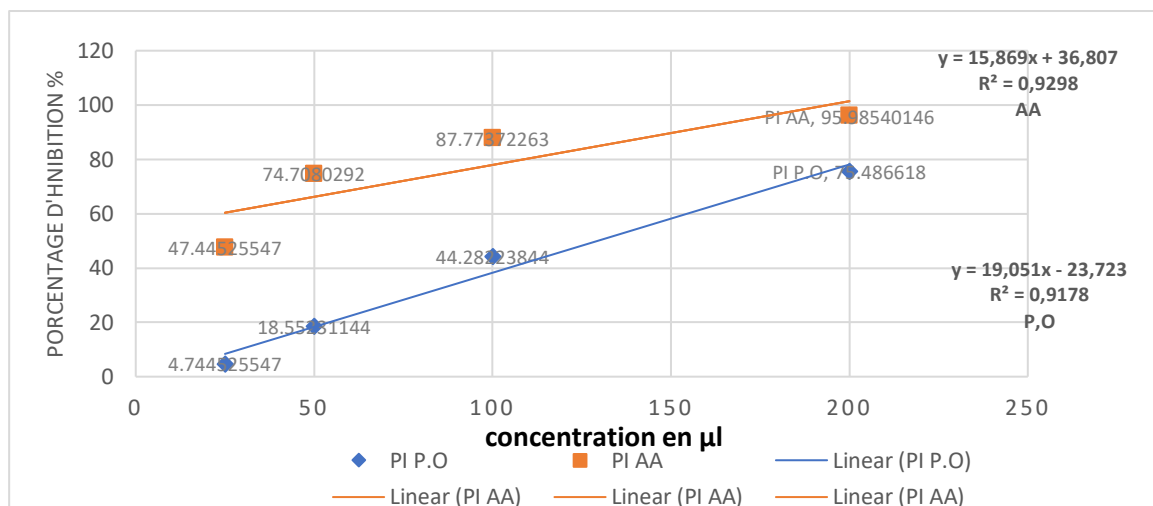


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• l'antioxydant standard et L'extrait P.O testé (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

On a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait de La plante utilisé *Pulicaria odora* était inférieur à celui de standard acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 50 µg/ml le standard a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 67.1% pour l'acide ascorbique. Concernant l'extrait de la plante le pourcentage d'inhibition de DPPH ne dépasse pas 20% pour la même concentration. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du DPPH reflétée par la décoloration complète du DPPH du violet en jaune pâle. La capacité antioxydant de l'extrait a été déterminée à partir de l'**IC50**, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hobi & Eddouks, 2016**).

Nous avons déterminé IC50 pour l'extrait et pour le standard. À partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableaux3 : le

*antioxydant
IC50 (en µg
références et*

Enchantions	IC50 µg/ml (ECARTYPES)
Acide ascorbique	0.83 ±1.3
<i>Pulicaria odora</i>	3.869±2.8

*pouvoir
(exprimé par
/ml)) de
l'extrait testé*

D'après les résultats présentés dans le tableau1, l'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique

Chapitre V : Résultat et discussion

(0.83), utilisés comme une molécule de référence, est bien inférieur à celui d'extrait de la plante (3.869) et donc, une activité antioxydante très élevée.

La valeur IC50 de l'extrait est un peu proche à celui de l'acide ascorbique, donc on peut conclure que l'activité antioxydantes de l'extrait est bien élevée.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, polyphénol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (*Bougandoura&Bendimerad, 2012*).

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les CI50 et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, à l'opposé d'autres études n'ont pas établie cette corrélation (*Athamena et al., 2010 ; Mariod et al., 2010*). Par ailleurs, il est bien établi que l'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (*Heim et al., 2002*) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (*Torres de pinedo et al., 2007*), ce qui peut expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (**groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés**) et le degré de polymérisation (*Popovici et al., 2010*). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (*Rodriguez-Bernaldo et al., 2010*).

V.3.2. Evaluation de pouvoir réductionnelle FRAP:

La coloration de l'extrait traité par la méthode de **FRAP** est changée est viré vers le bleu de (**figure 10**) dans les concentrations utilisées. Ce changement de couleur montre la réduction de (Fe³⁺) grâce à la présence des réducteurs dans les extraits des plantes.

Chapitre V : Résultat et discussion

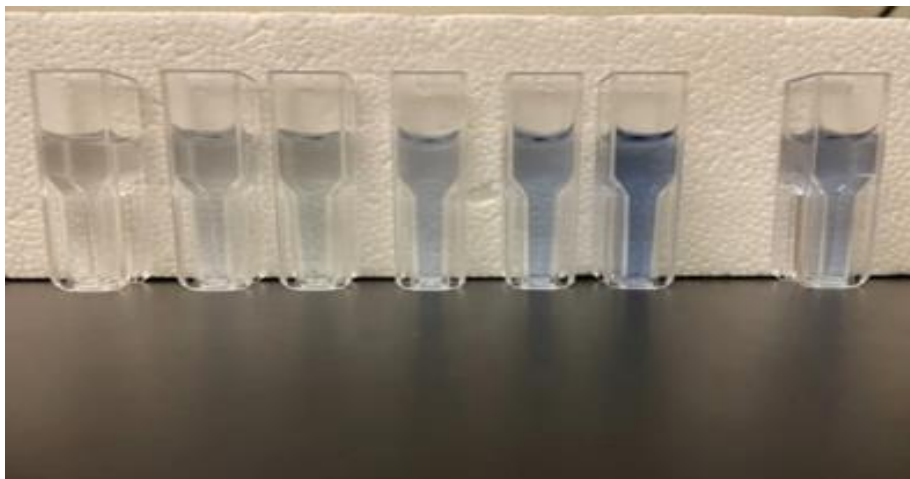


Figure 10: le changement de coloration de l'extrait traité par la méthode de FRAP

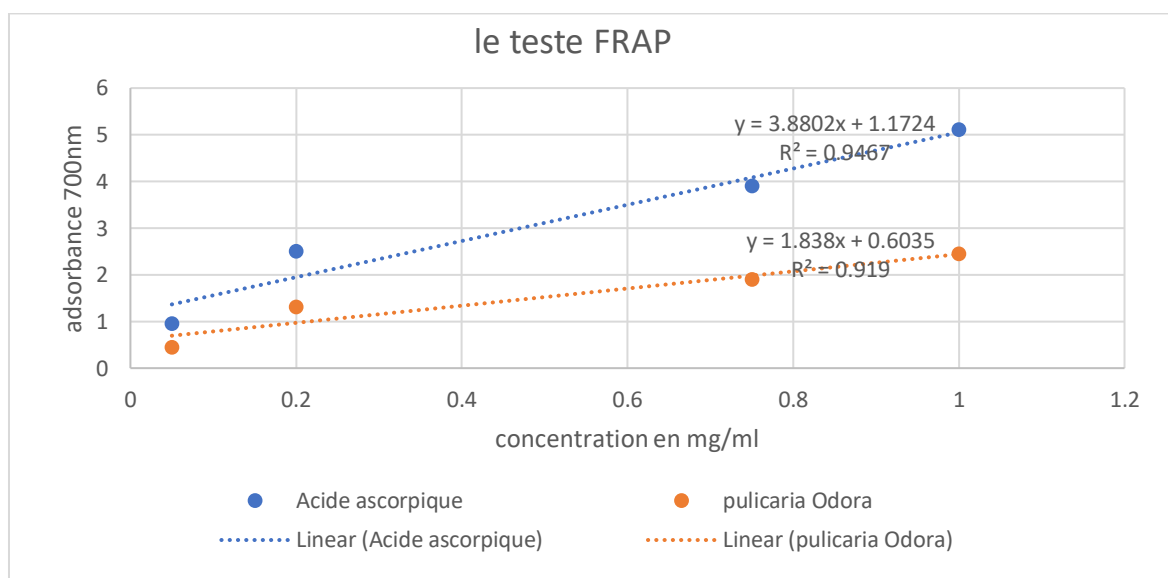


Figure 11: pouvoir réducteur de l'antioxydant standard et l'extrait P.O testé (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

D'après les résultats, pour l'extrait testé, et le standard, une augmentation de la réduction de fer est proportionnelle aux concentrations utilisées.

Notre extrait possède une activité antioxydant notamment inférieur celle de la référence (acide ascorbique). Pour toutes les concentrations. A la concentration de 1mg/ml, le pouvoir Réducteur est important pour l'extrait (DO=2.45) et standard (DO=5.1). (**Figure 25**)

Le pouvoir réducteur de l'espèce Pulicaria odora est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des (**Siddhuraju P.et Becker K. ,2007**).

Chapitre V : Résultat et discussion

Conclusion et perceptive

Les plantes médicinales restent toujours la première source des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qui sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Le potentiel antiradicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH, et FRAP le montre que l'extrait de la plante étudiée présente des propriétés antioxydantes remarquables. Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail *Pulicaria Odora* contient probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus de l'espèce *Pulicaria Odora* selon la méthode de la réduction du fer et celle du piégeage du radical libre DPPH a montré que notre extrait méthanolique possède une activité antioxydante modérée.

Sachant que notre pays possède une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constituée par des espèces médicinales, dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Résumé

A

- Afanas'eva, I.B., Ostrakhovitch, E.A., Mikhal'chik, E.V., Ibragimova, G.A., Korkina, L.G. (2001). Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. *Biochemical Pharmacology*. 61(6): 677-684.
- Afanas'eva I.B., Dcrozko A.I., Brodskii A.V., Kostyuk V.A., Potapovitch A.I. (1989). Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical pharmacology*. 38(11):1763-1769. Amlan

B

- Bai Y., Song F., Chen M., Xing J., Liu Z., Liu S. (2004). Characterization of the rutin-metal complex by electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Analytical Sciences*. 20: 1147–1151
- Beaudeau, J. L., & Geneviève, D. (2011). *Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives*. 2ème édition. Edition Lavoisier Chantal Arpino, p 130 , 131.
- Besançon, (2012). *Progrès en dermato-allergologie*. Edition John libbey eurotext, p 111.

C

- Carocho M., Ferreira I. C. ; *Food and Chemical Toxicology* 2013, 51, 15-25 ; [dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021](https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021)
- Cheng Cheng J., Bo Zhou F-D., Yang L., Liu Z.L. (2007). Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure-activity relationship. *Food Chemistry*. 104: 132–139
- Chira, , K., Suh, j. H., Saucier, C., & Teissédre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 , 75 – 82
- Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd .Véte*, 147, 315 – 324

D

Résumé

- Dang Dang L. (2007). Apport des spectroscopies moléculaires à l'étude des mécanismes de fixation des ions métalliques polluants par les substances humiques. Complexation de Al(III), Pb(II) et Zn(II) par des systèmes modèles. Thèse de Doctorat. Lille. p. 316
- De Souza R.f., W.F., De Giovani. (2004). Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions. Redox Report. 9(2): 97-104.
- Dufour C., Dangles O. (2005). Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta General Subjects. 1721:164-173.

E

- Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am J Clin Nutr, 72, 647S– 652S

F

G

- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2001). Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. Journal of Medicine Plants Research, 5 (31), 6697– 6703.
- Gibbs C.R. (1976). Characterization and application of ferrozine iron reagent as a ferrous iron indicator. Analytical Chemistry. 48(8): 1197-1201.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutr Clin Metabol, 11, 115 – 120.

H

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 62, 628 – 638.
- Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine.

Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015): Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue

bibliographique, 44-61 p

- Hussein S. R., Marzouk M. M., Soltan M. M., Ahmed E. K., Said M. M., Hamed A. R.

Résumé

2017. Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L.) C. A. Mey. Subsp. *Undulata* (Asteraceae): Antioxidant protective effects and chemosystematic significances. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25: 333-339.

- HUBERT, 2006 : Hubert J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de doctorat Institut national polytechnique de Toulouse, France

I

Ibrahim et Hegazy . , 2012 : Ibrahim , M.I. ET Hegazy , A.E. (2012) . Antioxydant activities of orange peel extract . *Department of Food science and technology* , 18 (5) : 684-688

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., DeLaage de Meux, A., Moulard, F., et al., (2001). *Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, soins.* Edition Larousse, p10, 12

J

- Jacques Fleurentin. "Du bon usage des plantes qui soignent". Editions Ouest-France 2013.
- JAYAPRAKASH et al., 2001 : Jayaprakash G.K., Singh R.P. et Sakariah K.K. (2001). activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro. *J. Agric. Food Chem.*, (55): 1018-1022.
- Jovanovic S.V., Steenken S., Hara Y., Simic M.G. (1996). Reduction potentials of flavonoids and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity? *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions*, 2: 2497-2504
- Jungbluth G., Rühling I. et al. (2000). Oxidation of flavonols

K

- Karamać M., Pegg R.B. (2009). Limitations of the tetramethylurea assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(14): 6425-6431.
- Korkina L.G., Afanas'ev I.B. (1997). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv. Pharmacol.* 38: 151-163.

Résumé

- Kostyuk, V.A., Potapovich A.I., Kostyuk T.V., Cherian M.G. (2007). Metal complexes of dietary flavonoids: evaluation of radical scavenger properties and protective activity against oxidative stress in vivo. *Cell. Mol. Biol.* 53: 62–69.

L

- Larousse encyclopède des plantes médicinales p 14
- Ladoh Yemeda et al . 2014 : Activité Ladoh Yemeda , C.F. , Dibong , S.D. , Nyegue , M.A. , Djembissi Talla , R.P. , Lenta Ndjakou , B. , Mpondo , E. , Yinyang , J. , Wansi , J.D. (2014) . capitata de *Phragmanthera* antioxydante des extraits (*Loranthaceae*) récoltée sur *Citrus sinensis* . *Journal of Applied Biosciences* . 84 : 7636-7643 .

M

- Mahmoudi et al . , 2013: Mahmoudi , S. , Khali , m . et Mahmoudi , N. (2013) . Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut *Cynarascolymus L.* . *Nature et Technologie* , 09 : 35-40
- Malešev D., Kuntić V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society.* 72(10): 921-939.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition.* 79: 727-747. *Secrets des Plantes* Michel Pierre., Editions Proxima 463 pages
- Milardovic et al . , 2006 : Miladovic , S. , Ivekovic , D. et Bozidar , S.G. (2006) . A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical . *Bioelectrochemistry* , 68 : 175-180 .
- Mira L., Tereza Fernandez M., Santos M., Rocha R., Florencio H.M., et Jennings K.R. (2002). Interaction of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity. *Free Radical Res.* 36: 1199-1208.
- McCell M.R. & Frei H. Animal models of drug-induced liver injury. (1999). *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1865(5):1031-1039
- Monteiro M, Farah A, Perrone D, Trugo LC, Donangelo C. (2007). Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition.* 137: 2196-2201

Résumé

- Monties B., Marine-Font A., Douillard, R. (1969). Propriétés spectroscopiques des polyphénols. *Ann PhysiolVég.* 11(4): 313-339. Moridani M.Y
- Moridani M.Y., Pourahmad J., Bui H., Siraki A., O'Brien P.J. (2003). Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radical Biology and Medicine.* 34(2): 243-253.
- Mitsukuni Y., Ichikawa M., Tsushida T., Miyamoto S., et Terao J. (2004). Quercetin-4'-glucoside is more potent than quercetin-3-glucoside in protection of rat intestinal mucosa homogenates against iron ion-induced lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52(7): 1907-1912.

N

- Negre-Salvayre A., Affany A., Hariton C., Salvayre R. (1991). Additional antilipoperoxidant activities of alpha-tocopherol and ascorbic
- Niki, L., Reynaert, S. W., Aesif, T. M., Amy, B., Emiel, F. M., Wouters, C. G., Irvin., Yvonne, M. W., & Janssen-Heininger. (2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*, 178, 3814 – 3821.

P

- Pierre, M., & Lys, M. (2007). *Secrets des plantes pour se soigner naturellement*. Edition Artémis, p 36.

R

- Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. 2008. *Flore forestière française*. Tome II, Région méditerranéenne, 2419p.
- Richter G., *métabolisme des végétaux* 1993, pp: 267,287,296,297,409, 411 ,439,451
- Roberfroid Roberfroid, M. B., Coxam, V., & Delzenne, N. M. (2008). *Aliments fonctionnels*. 2ème édition. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 209, 215

S

Résumé

- Seong - Chun , J. , Nam K.C. , ET Ahn , D.U. (2004) . Effet of HeatTreatment on the Antioxydant Activity of Extractsfrom Citrus Peel . Journal of Agricultural and Food Chemistry , 52 : 3389-339 .
- Shankar, S., & Srivastava, R. K. (2012). Nutrition, diet and cancer. Edition springer DordrechtHeidelberg London New York London, p 213.

T

- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., &Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7(3), 1089 – 1099..
- Thompsen J. C., et Mottola H. A. (1984). Kinetics of the complexation of iron (II) withferrozine. Analytical Chemistry . 56(4): 755-757.

W

- Wichtl, M., Anton, R., Czygan, F. C., Frohne, D., Hiller, K., Holtzel, C., Nagell, A., Pachaly, P., Pfander, H. J., Willuhn, G., &Buff, W.(2003). Plantes thérapeutiques. 2éme édition. Edition Lavoisier Tec &DocMédicales Internationales, Paris, p XXVI
- Wilhelm Nultsch, Botanique générale 10emédition,1995.

Z

- Zahalka J.-P. Les plantes en pharmacie : propriétés et utilisations, Ed. du Dauphin, 14 octobre 2005.
- Zhao W., Feng X., Ban S., Lin W., Li Q. ; Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 2010, 20, 4132-4134 ; dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.05.068

Résumé

Résumé :

Pulicaria odora est une plante très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Cela nous a incités à réaliser ce travail en cours, qui porte sur la teneur en polyphénols totaux, la teneur en flavonoïdes, l'activité antioxydante.

Dans cette étude, nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait préparé à partir des parties aériennes de *Pulicaria odora*. Nous avons tout d'abord procédé aux dosages quantitatifs colorimétriques par un spectrophotomètre UV - Vis des polyphénols totaux , ainsi que les flavonoïdes comme étant la classe la plus importante de la famille des polyphénols Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont révélé la richesse du *Pulicaria odora* en polyphénols ,Le pouvoir antioxydant de l'extrait brut a été évalué in vitro par les tests du DPPH et l'inhibition de la peroxydation d'acide ascorbique est utilisé comme contrôle. Des résultats obtenus , il ressort que ces polyphénols ont une grande capacité de piéger le radical DPPH et le teste réductionnelle

FRA

Abstract

Pulicaria odora is a plant widely used in traditional medicine in Algeria. This prompted us to carry out this work in progress, which concerns the content of total polyphenols, the content of flavonoids, the antioxidant activity.

In this study, we attempted to evaluate the antioxidant activity of the extract prepared from the aerial parts of Pulicaria odora. We first proceeded to quantitative colorimetric assays by a UV - Vis spectrophotometer of total polyphenols, as well as flavonoids as being the most important class of the family of polyphenols. Quantitative assays of total polyphenols and flavonoids revealed the richness of Pulicaria odora in polyphenols, The antioxidant power of the raw extract was evaluated in vitro by the DPPH tests and the Inhibition of ascorbic acid peroxidation is used as a control. From the results obtained, it appears that these polyphenols have a great capacity to trap the radical DPPH and the redutational test FRAP.

Keywords : Pulicaria odora. polyphenol, flavonoids. Antioxidant activities. Oxidative stress.

ملخص

بليكاريا ودور انبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. دفعنا هذا إلى تنفيذ هذا العمل الجاري، والذي يتعلق بمحتوى البوليفينول الكلي، ومحتوى الفلافونويد، والنشاط المضاد للأكسدة

انتقلنا أولاً إلى المقاييسات. في هذه الدراسة، حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المحضر من الأجزاء الهوائية من اللونية الكمية بواسطة مقياس الطيف الضوئي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية لمجموع البوليفينول، وكذلك الفلافونويدات باعتبارها أهم فئة في عائلة البوليفينول. كشفت المقاييسات الكمية لمجموع البوليفينول والفلافونويد عن ثراء بوليكاريا ودورا في وتم استخدام تثبيط DPPH البوليفينول، تم تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلص الخام في المختبر من خلال اختبارات بيروكسيد حامض الأسكوربيك كعنصر تحكم. من النتائج التي تم الحصول عليها، يبدو أن هذه البوليفينول لديها قدرة كبيرة على FRAP الجذري والاختبار الإرجاعي DPPH حيس