

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme: **Master Académique en Biologie**

Option: Biochimie et santé

Thème

Etude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Jijel

Membre de jury:

Président : Dr. KEBIECHE M.

Examinatrice : M^{me} CHERBAL A.

Encadrante : M^{me} BOUTENNOUN H.

Présenté par :

M^{elle} : Habila Asma.

M^{elle} : Kitatni Kelthoum.

Année universitaire 2016-2017

N°d'ordre :.....

Remerciements

Avant tous nous remercions ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir cette étude. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

En second lieu, nous tenons à remercier notre Encadrante : M^{me} BOUTENNOUN Hanane qui n'a pas cessé de nous donner les conseils et les bonnes orientations et nous ne prive pas de son temps. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

Nos vifs remerciements vont également à Dr. KEBIECHE Mohamed et M^{me} CHERBAL Asma. Nous tenons à leur exprimer notre grand respect. Nos remerciements s'adressent aussi à tous les personnages de laboratoire de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'Université Mohammed Seddik Benyahia de Jijel.

Enfin, nous remercions gracieusement NOS FAMILLES qui nous ont donné toute l'aide et toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Nous dédions ce travail à nos **Parents** qu'ils trouvent ici toute nos
gratitudes pour leur soutien tout le long de mes études*

*A nos **Sœurs** et nos **Frères***

*À nos **Amis***

A ceux qui nous ont tout donné sans rien en retour

Asma et Kelthoum

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I: Le stress oxydatif	02
I.1. Définition de stress oxydant.....	02
I.2. Définition des radicaux libres.....	02
I.3. Les origines des ROS.....	02
I.4. Les conséquences de stress oxydatif	05
I.5. La défense antioxydante.....	06
Chapitre II : Les composés phénoliques	11
II II.1. Définition.....	11
II II.2. Répartition.....	11
I II.3. Classification.....	12
II II.4. La biosynthèse.....	15
II.5. Activités biologiques des polyphénols.....	16
II.6. <i>Eucalyptus globulus</i>	17
II.6.1. Présentation.....	17
I.6.2. Classification.....	18
6.3. Propriétés thérapeutiques.....	18
7. <i>Malva sylvestris</i>	18
7.1. Présentation.....	18
7.2. Classification.....	19
7.3. Propriétés thérapeutiques.....	20
Partie pratique	
I. Matériel et méthodes.....	21
I.1. Matériel végétal.....	21

I.2. Préparation des extraits.....	21
I.2.1. Séchage.....	21
I.2.2. Broyage.....	21
I.2.3. Tamisage.....	22
I.2.4. Extraction des composés phénoliques.....	22
I.2.4.1. Macération.....	22
I.2.4.2. Filtration et décantation.....	23
I.2.4.3. Evaporation.....	23
I.2.5. Détermination du rendement d'extraction.....	25
I.2.6. Dosage des polyphénols.....	25
I.2.7. Dosage des flavonoïdes.....	26
I.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	27
I.3.1. Pouvoir antiradicalaire.....	27
I.3.2. Pouvoir réducteur.....	28
I.3.3. Neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	30
I.4. Analyse statistique.....	31
II. Résultats et interprétations.....	32
II.1. Les rendements des extraits phénoliques.....	32
2. Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des différents extraits.....	32
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	34
II.3.1. Activité antiradicalaire DPPH.....	34
II.3.2. Pouvoir réducteur	35
II.3.3. Pouvoir réducteur H ₂ O ₂	36

III. Discussion	37
Conclusion	40
Références bibliographiques	42

Liste des Abréviations

ADN: Acide Désoxyribo Nucléique

AGE: dernier produit de la glycation des protéines (Advanced Glycation End)

AlCl₃: Chloride d' Aluminium

ATP : Adénosine-5'-Triphosphate

l'ATP-synthase: Adénosine-5'-Triphosphate Synthase

C : Carbone

cCu-ZnSOD : Superoxydes Dismutases à Cuivre-Zinc protégeant le cytosol

Cu: Cuivre

DAHP: 3-Deoxy-D-Arabino-Heptulosonate 7-Phosphate

DAHP synthase:3-Deoxy-D-Arabino-Heptulosonate 7-PhosphateSynthase

DO : Densité Optique

DPPH : 2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle (A,A-Diphényl-B-Picrylhydrazyle)

ecCu-ZnSOD: Superoxydes Dismutases à Cuivre-Zinc de la face externe de la membrane des cellules endothéliales

EPSP: 5- *Enol*pyruvylshikimate 3-Phosphate

FeCl₂ : Chlorure Ferreux

FeCl₃ : Chlorure Ferrique

FLO[•]: Radical Flavoxyle

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

Hocl : Acide Hypochlorique

GP : GlycoProtéine

GP41 : GlycoProtéine 41

Gpx : Glutathion Peroxydase

GSH:Glutathion Réduit

GSSG: Glutathion Disulfide Oxydé

Kfe₃(CN)₆ : Ferricyanure de Potassium

LDL: Low Density Lipoprotein

L-DOPA: DihydrOxyPhénylAlanine

LOOH: Peroxyde de Lipides

Mn: Manganèse

Mnsod : Superoxydes Dismutases à Manganèse

Na₂CO₃:Sodium Carbonate

NADPH :Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NADPH Oxydase :Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Oxydase

Ni : Nickel

O₂⁻ : Ion Superoxyde

O₃: Ozone

OH : Groupe Hydroxyle

OH⁻ : Ion Hydroxyle

Pcu-Znsod : Superoxydes Dismutases à Cuivre-Zinc de Plasma sanguin

PN : Polynucléaires

R* : Radicaux Libres

RO₂ : Peroxydes

ROS : Reactive Oxygen Species

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique

SOD : Superoxyde Dismutase

SRAS : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

Trxr : Thiorédoxine Réductase

Uv : Ultra-Violet

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Zn : Zinc

Les unités couramment utilisées sont listées ci-dessous :

G : Gramme

G/L : Gramme par Litre

H, Min : Heur, Minute

M : Molaire (Concentration en Mole par Litre)

Ml : Millilitre

Nm : Nanomètre

Ml : Microlitre

µm : Micrométré

µg : Microgramme

% : Pourcentage

C : Température en Degrés Celsius

Liste des figures

Figure 01 : Antioxydants d'origine alimentaire: α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols).....	9
Figure 02 : Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	17
Figure03 : Parties aériennes de <i>Malva sylvestris</i>	19
Figure 04 : Macération sous agitation magnétique.....	22
Figure 05 : La filtration à l'aide du papier Whatman N°3.....	23
Figure 06 : Délipidation et décantation des extraits.....	23
Figure 07 : Evaporation des extraits phénoliques.....	23
Figure 08 : Protocole général d'extraction des polyphénols.....	24
Figure 9 : Protocole de dosage des composés phénoliques.....	26
Figure 10 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	27
Figure 11 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire.....	28
Figure 12 : Protocole d'étude de pouvoir réducteur fer.....	29
Figure 13 : Protocole d'étude de Pouvoir réducteur H_2O_2	30
Figure 14 : Les rendements des deux extraits bruts de <i>M. Sylvestris</i> et d' <i>E. globulus</i>	32
Figure 15 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux	33
Figure 16 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	33
Figure 17 : Evaluation de l'activité anti-radicalaire des deux extraits étudiés à différentes concentrations vis- à- vis de radical libre DPPH.....	34
Figure 18 : Pouvoir réducteur de fer des deux extraits et du standard à différentes concentrations.....	35
Figure 19 : Pouvoir réducteur de H_2O_2 des deux extraits et du standard à différentes Concentrations.....	36

Liste des tableaux

Tableau I :	Les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation.....	21
Tableau II :	Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des deux plantes étudiées.....	33

Introduction

Introduction

Depuis les dernières années, la médecine moderne dépend beaucoup des plantes. Les laboratoires de chimie et de biologie à travers le monde ont emboîté le pas à la médecine traditionnelle pour la recherche des voies et moyens de venir à bout des pathologies diverses, ceci par la recherche de nouveaux principes actifs et la compréhension de leurs modes d'action (Clément, 2005).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et *al.*, 1996).

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments (Bruneton, 1999). Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants (Laughton et *al.*, 1989; Apak et *al.*, 2007) qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des prooxydants (Tsao, 2010; Pereira et *al.*, 2009).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant *in vitro* les propriétés antioxydantes des polyphénols de deux plantes médicinales d'origine méditerranéennes de la région de Jijel (*Eucalyptus globulus* et *Malva sylvestris*).

Au cours de ce travail et dans la première partie, nous avons commencé par une étude bibliographique, relative au stress oxydant et la défense antioxydante, aux polyphénols et aux plantes étudiées. Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale, qui se focalise sur l'analyse phytochimique, cette dernière s'intéresse à la détermination la de teneur en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes) et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits des plantes par trois techniques chimiques: pouvoir antiradicalaire, pouvoir réducteur de fer et la neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Chapitre I
Stress oxydant

I. Le stress oxydant

I.1. Définition de stress oxydant

Le stress oxydant est un état qui résulte d'un déséquilibre au sein d'un individu entre la production d'éléments oxydants et les mécanismes de défense antioxydants. Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (Moren et *al.*, 2002). Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ROS (reactive oxygen species) dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires (Haleng et *al.*, 2007).

I.2. Définition des radicaux libres

Les dérivés actifs de l'oxygène, également connus sous le nom de ROS ou de radicaux libres oxygénés, ont au moins un électron non apparié, ce qui en fait des molécules très instables, capables de réagir avec les molécules voisines en leur arrachant un électron, les transformant à leur tour en molécules radicalaires. Certaines ROS sont sous forme ionique (l'ion hydroxyle [OH⁻], l'ion superoxyde [O₂⁻]), et d'autres sous forme de molécules (le peroxyde d'hydrogène [H₂O₂], l'acide hypochlorique [HOCl], le peroxyde de lipides [LOOH] et l'ozone [O₃]) (Methorst et *al.*, 2014).

I.3. Les origines des ROS

Il existe de nombreuses sources d'espèces réactives de l'oxygène. Elles sont classées en deux catégories, les sources endogènes, et les sources exogènes (Alcaraz et *al.*, 2013).

I.3.1. Les sources endogènes

Dans l'organisme, il existe de nombreuses sources d'espèces réactives de l'oxygène dont l'importance est variée selon les tissus.

I.3.1.1. Les enzymes du métabolisme et de l'inflammation

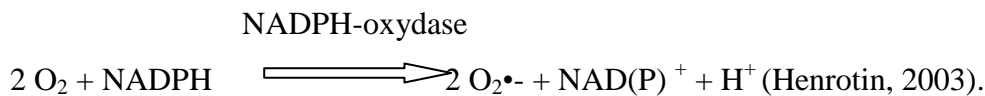
Il ya plusieurs enzymes responsables de la production des ROS (Tamion et *al.*, 2003).

A. La myéloperoxydase

La myéloperoxydase est une enzyme sécrétée par les polynucléaires (PN) activés. Elle catalyse la formation d'ion acide hypochlorique [HOCl] qui réagit avec les amines primaires membranaires pour produire des dérivés chlorés possédant un très fort pouvoir oxydant (Tamion et *al.*, 2003).

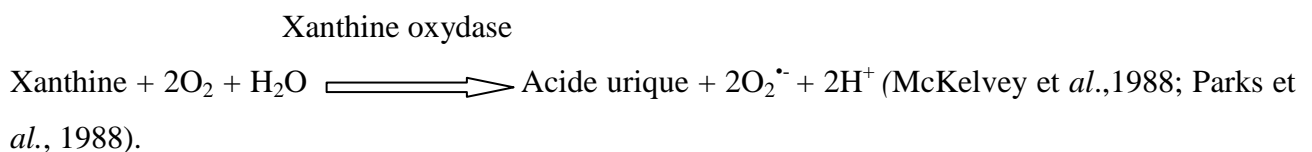
B. La NADPH oxydase (NOX)

La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (ou NADPH-oxydase) est un complexe enzymatique présent dans les membranes plasmiques des neutrophiles et des macrophages mais est aussi retrouvée dans les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses (Jairam et *al.*, 2012). Son rôle principal est de générer le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en transférant des électrons du NADPH au dioxygène O_2 (Henrotin, 2003).



C. La xanthine oxydase

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\bullet-}$ (McKelvey et *al.*, 1988; Parks et *al.*, 1988).



I.3.1.2. La chaîne respiratoire mitochondriale

Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le transport électronique est opéré par quatre complexes enzymatiques (I, II, III et IV) (Halliwell et Gutteridge, 2008; Alcaraz et *al.*, 2013). Ces complexes contiennent tous des centres d'oxydoréduction : centres Fe-S, ions cuivre, ions fers (hèmes), quinones, flavines. La synthèse d'ATP à partir d'ADP par l'ATP-synthase est située au niveau du complexe V. C'est le passage des électrons de complexe en complexe le long de la chaîne respiratoire qui crée le gradient de protons de part et d'autre de la membrane mitochondriale interne. Bien que la cytochrome oxydase ne produit pas des ROS, certains composants de la chaîne mitochondriale qui la précèdent font fuir les électrons de manière constante, réduisant directement l' O_2 ambiant en ion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ au lieu d'être transmis aux composants suivants (Halliwell et Gutteridge, 2008; Wu et *al.*, 2011).

I.3.1.3. Le réticulum endoplasmique

Le superoxyde peut résulter aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes P₄₅₀ présents au niveau du réticulum endoplasmique (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

I.3.1.4. L'auto-oxydation

De nombreuses molécules biologiquement essentielles sont oxydées par le dioxygène O₂ avec production de radicaux superoxydes. Elles incluent notamment les catécholamines (adrénaline et noradrénaline par exemple), le glycéraldéhyde, la dopamine et dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) et divers composés thiols dont la cystéine et des tétrahydroptéridines (Halliwell et Gutteridge, 2008).

I.3.2. Les Sources exogènes

D'autres sources ou modes de génération exogène des ROS existent de part les interactions avec leur milieu environnant (De moffarts et *al.*, 2005).

I.3.2.1. Les particules inhalées

Les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres, d'une part parce qu'elles exacerbent la phagocytose, d'autre part parce que leur surface est tapissée de sels de fer (Favier, 2003).

I.3.2.2. Les rayonnements

Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou γ , soit en activant des molécules photosensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des anions superoxydes et de l'oxygène singlet (Favier, 2003).

I.3.2.3. Les métaux toxiques

Certains métaux apportés de manière exogène, mais peuvent être aussi endogènes tels que le fer ou le cuivre, sont nécessaires à l'organisme mais peuvent à des taux élevés générer des ROS en participant à la réaction de Fenton. En effet, ces métaux de transition peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de composé organique (RH) et générer des ROS selon la réaction de Fenton (Serrano et *al.*, 2000).

$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{OH}^- + \text{HO}^\circ + \text{Fe}^{3+}$ (la réduction de Fe^{3+} par O_2^- fournit le Fe^{2+} nécessaire à la réaction) (Rabaud et *al.*, 1997).

I.3.2.4. La défaillance nutritionnelle

La défaillance nutritionnelle ou la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation, sont aussi des sources de stress oxydant (Favier, 2003).

I.4. Les conséquences de stress oxydatif

La réactivité particulière des ROS ajoute des propriétés toxiques importantes et diversifiées. En effet, toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des ROS (Barouki, 2006).

I.4.1. Conséquences sur l'ADN

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être oxydées, conduisant notamment à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques. C'est sans doute ce qui explique la génotoxicité des radicaux libres. Notons que l'ADN mitochondrial, du fait de sa proximité avec la chaîne respiratoire, site éminent de production des ROS, et du fait de l'absence de chromatine organisée, est particulièrement exposé à l'oxydation (Barouki, 2006).

I.4.2. Conséquences sur les protéines

L'électron non apparié des radicaux libres peut s'attaquer à la structure de certaines protéines, en particulier les protéines porteuses d'un groupement sulfhydryle (-SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et pour lesquelles on observe la formation de ponts entre protéines, une fragmentation ou une dénaturation. Ces réactions peuvent altérer de façon marquée le métabolisme cellulaire en modifiant la conformation et/ou l'activité biologique de ces protéines (Rochette et Vergely, 2003).

I.4.3. Conséquences sur les lipides

Les ROS réagissent aussi avec les acides gras insaturés, conduisant à la formation d'hydroperoxydes. Ils contribuent aussi à la glycation des protéines et à la formation des dérivés de

cette glycation qu'on appelle les AGE (advanced glycation endproducts). De par leur réactivité et leurs cibles, les ROS ont été incriminés dans la pathogénie d'un grand nombre de pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies dégénératives et le diabète (Barouki, 2006).

I.4.4. Conséquences sur les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Haleng et *al.*, 2007).

I.5. La défense antioxydante

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression des oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (Morena, 2002).

I.5.1. La défense antioxydant enzymatiques

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ROS (Morena, 2002).

I.5.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, formant avec deux superoxydes une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Les superoxydes dismutases existent sous plusieurs isoformes dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution, formant un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (Favier, 2003).

I.5.1.2. Les catalases

La catalase est une enzyme cytotologique inductible dont la fonction est de protéger les systèmes biologique contre les espèces réactives de l'oxygène. Il s'agit d'une hémoprotéine

tétraédrique qui avec un atome de fer par sous unité, a une masse d'environ 240 KDa. Elle est présente dans toutes les cellules aérobies, elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène gazeux par dismutation (Chiahi et *al*, 2016).

I.5.1.3. Les glutathions peroxydases (GPx)

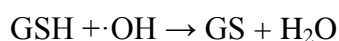
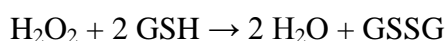
Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques à sélénium, cytoplasmiques et mitochondriales, qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion/glutathion disulfide (GSH/GSSG). Les GPx permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne en réduisant les peroxydes instables en acides gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase, en présence de NADPH (Rochette et Vergely, 2003).

I.5.2. La défense antioxydante non enzymatiques

Parmi les antioxydants non enzymatiques se trouvent :

I.5.2.1. Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide dont la concentration intracellulaire est importante. La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H), qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles. Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R. En effet, dans ce cas, un phénomène de « réparation » des radicaux R en RH se produit par opposition à l'oxydation possible des radicaux R par O₂, donnant naissance à des radicaux peroxydes RO₂ (Gardès-Albert et *al.*, 2003).



I.5.2.2. La thiorédoxine

La thiorédoxine est l'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des

peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng et *al.*, 2007).

I.5.2.3. Les antioxydants d'origine alimentaire

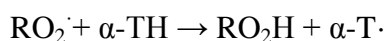
Les antioxydants d'origine alimentaire, comme l'ascorbate, les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols (figure 1), exercent des effets protecteurs importants *in vivo* (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

A. L'ascorbate

L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles OH, mais aussi avec les radicaux superoxydes O₂•⁻ (et leur forme protonée HO₂). L'ascorbate capte les radicaux peroxydes RO₂. En réagissant avec ces divers oxyradicaux, l'ascorbate est oxydé en radical ascorbyl qui est relativement inerte vis-à-vis des matériaux biologiques (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

B. Les tocophérols naturels

La vitamine E, représentée en majorité par l'alpha-tocophérol, est un composé antioxydant puissant, notamment du fait de son caractère lipophile, qui lui permet d'agir au site même de la peroxydation lipidique membranaire. En échangeant un électron libre, le tocophérol se transforme en radical tocophéroxyle, peu réactif de par sa structure cyclique. Le radical tocophéroxyle peut être régénéré par l'ascorbate, qui devient alors radicalaire (Rochette et Vergely, 2003).



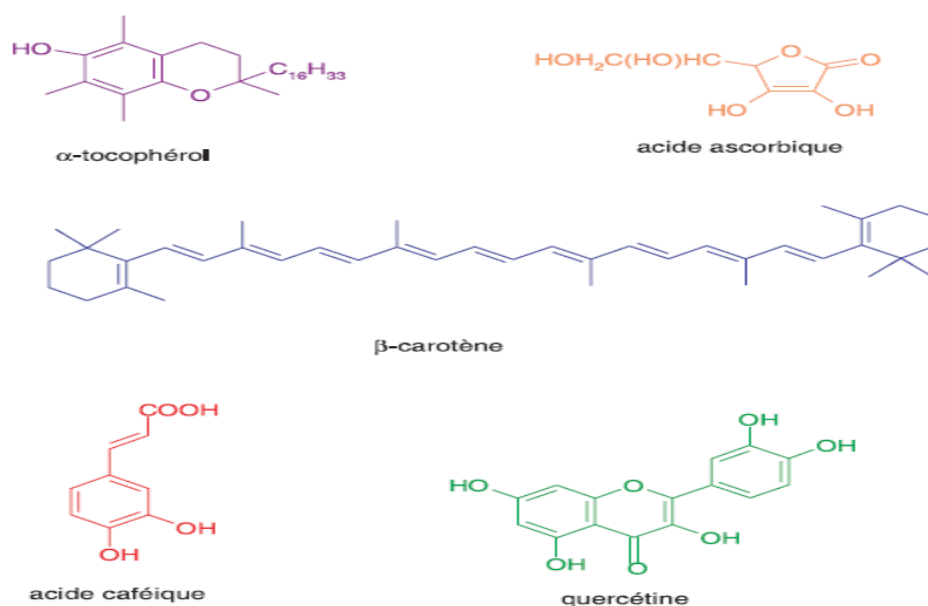
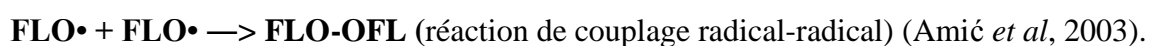
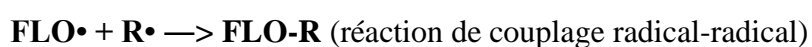


Figure 1: Antioxydants d'origine alimentaire : α-tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β-carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols) (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

C. Les caroténoïdes et les polyphénols

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de vastes familles de composés (plusieurs centaines) parmi lesquels se trouvent le β-carotène (famille des caroténoïdes), l'acide caféique et la quercétine (famille des polyphénols) (figure 1). Les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteur d'oxygène singlet, l'O₂^{•-}, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Gardès-Albert et *al.*, 2003). Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction de piégeage. Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO•), ce dernier va subir un changement de structure par résonance; redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux R•; en outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (Amić et *al.*, 2003).



Les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde (Hansaki et *al.*, 1994; Cos et *al.*, 1998). Ils peuvent facilement chélater les ions métalliques (le fer et le cuivre) en créant des composés complexes inactifs (Malešev et Kuntić, 2007). La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux : site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B, site situé entre le groupe 3OH et 4 C=O de l'hétérocycle C, et site situé entre le groupe 5OH du cycle A et le groupe 4C=O de l'hétérocycle C (Tiqwari, 2001).

I.5.2.4. Les métaux

Ils existent plusieurs métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni), qui jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon, le sélénium (Se) est l'élément catalyseur de la GPx (De moffarts et *al.*, 2005).

Chapitre II
Les composés phénoliques

II. Les composés phénoliques

II.1. Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvés dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus (Waksmundzka-Hajnos et al., 2011). Ils sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement à masse moléculaire élevée. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire des plantes (Rice-Evans et al., 1997; Ahmadi et al., 2007).

II.2. Répartition

La distribution des composés phénoliques dans les végétaux aux niveaux cellulaire, sous-cellulaire et tissulaire n'est pas uniforme (Wink, 1997). À l'échelle cellulaire, la répartition des composés phénoliques est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : la paroi cellulaire où sont présentes les lignines et la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanins...). Certains flavonoïdes pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration. La répartition subcellulaire des composés phénoliques n'est modifiée que lorsque des perturbations membranaires interviennent, soit au cours de certaines évolutions physiologiques soit à la suite de divers traitements. À l'échelle tissulaire, on observe également des répartitions très inégales des différents composés phénoliques. Ainsi les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux, en particulier les épidermes des fruits et des feuilles. Certains fruits comme les fraises ou les cassis montrent cependant une accumulation des anthocyanes dans les tissus profonds (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3. Classification

Les polyphénols sont divisés en plusieurs classes :

II.3.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques se trouvent abondamment dans les aliments et se divisent en deux classes :

II.3.1.1. Acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆-C₁. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆-C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide p-coumarique et les acides caféique, férilique et sinapique. L'ensemble est souvent rapporté sous le vocable commun de «phénylpropanoïdes». Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus étudié de polyphénols. Ce groupe a une structure basique commune constituée de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui forment un hétérocycle oxygéné (De Groot et Rauen, 1998). En fonction de la variation du type d'hétérocycle impliqué, les flavonoïdes peuvent être divisés en six sous-classes: les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavanols, les anthocyanes et les isoflavones (Spencer et *al.*, 2008).

II.3.2.1. Flavonols

Les flavonols sont caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C₃. Elles sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal, leur couleur varie du blanc au jaune, elles sont essentiellement représentées par la quercétine, le kaempférol et la myricétine. Les flavonols qui s'accumulent dans les tissus végétaux sont presque toujours sous la forme conjugués glycosylés (Fraga, 2009).

II.3.2.2. Flavones

Les flavones sont structurellement très similaires aux flavonols et ne diffèrent que par l'absence d'hydroxylation en position 3 sur le cycle C. Elles sont principalement représentées dans l'alimentation par l'apigénine et la lutéoline. Contrairement aux flavonols, elles sont moins répandues dans les fruits et les légumes. Par conséquent, leur apport alimentaire est très faible (Fraga, 2009).

II.3.2.3. Flavanones

Tout comme les flavones, ces molécules ne comportent pas d'hydroxyle en 3. À cette famille appartiennent la naringine et l'hespéridine. On les trouve surtout dans les agrumes, en même temps que les flavones. Parmi les formes aglycones, l'ériodictyol est le plus actif mais la plupart des flavanones sont glycosylées en 7 par le rutinose ou néohespéridose. Le blocage du groupe 7-OH des flavanones par un sucre ferait chuter l'activité antioxydante (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.2.4. Flavanols

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Elles sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés. Les flavan-3-ols sont très abondants dans les fruits comme les abricots, les cerises, les raisins. (Fraga, 2009).

II.3.2.5. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces (Kong et al., 2003). Ces pigments sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ils sont accumulés dans les vacuoles cellulaires (Kerio et al., 2012) et ils sont responsables des couleurs rouges, violettes et bleues dans les fruits, les légumes, les fleurs et les graines. Ils jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes et dans la dispersion des graines. Les anthocyanes sont stabilisés dans les plantes par des interactions avec des acides aminés, des tanins et des 4-oxo-flavonoïdes (Shipp et Abdel-Aal, 2010).

II.3.2.6. Isoflavones

Les isoflavones se différencient des flavones par la fixation du noyau benzénique au carbone 3 de l'hétérocycle (Cassidy et al., 2000). Plus de 90 % des isoflavones sont sous forme glycosylée, mais ce sont les formes aglycones qui ont l'activité la plus forte (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.3. Lignanes.

Les lignanes sont des composés diphénoliques qui contiennent une structure de 2,3-dibenzylbutane formée par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique. Plusieurs lignanes, comme le secoisolariciresinol, sont considérés comme des phytoestrogènes. La source diététique la plus riche est le lin, qui contient du secoisolariciresinol (jusqu'à 3,7 g / kg de poids sec) et de faibles quantités de matairesinol (Adlercreutz et Mazur, 1997).

II.3.4. Tannins

Utilisés depuis l'antique par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et de leurs produits dérivés.

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.4.1. Tannins hydrolysables

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique et une partie non phénolique (souvent du glucose ou l'acide quinone). (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.4.2. Tannins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavanes 3-ols. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Les tanins condensés très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemples de nombreux fruits ou boissons fermentées ou non (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

II.3.5. Lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples. Les alcools sont oxydés en radicaux libres par une enzyme ubiquiste chez les plantes; la peroxydase. Les radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine. La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (Hopkins, 2003).

II.4. La biosynthèse

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

II.4.1. La voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaire) tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes (Ghasemzadeh, A et Ghasemzadeh, N., 2011). Les deux substrats phosphoenolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate sont des précurseurs qui dérivent respectivement de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphate. Ils sont condensés pour former le 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate (DAHP). Cette réaction est catalysée par l'enzyme DAHP synthase (2-dehydro-3-deoxyarabinoheptulosonate-7-phosphate synthase). La série des réactions enzymatiques conduit respectivement à la formation de : l'acide 3-déhydroquinique par l'enzyme 3-déhydroquinone synthase; l'acide 3-déhydroshikimique par l'enzyme 3-déhydroquinone déshydratase et finalement l'acide shikimique par l'enzyme shikimate déshydrogénase. L'acide shikimique est encore converti en shikimate 3-phosphate par l'enzyme shikimate kinase, et plus tard en 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP) par l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase, EPSP est alors converti en acide chorismique par la chorismate synthase. L'acide chorismique est à un point de branchement pour la biosynthèse des acides aminés aromatiques: le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine. La phénylalanine et la tyrosine sont des précurseurs d'une importante classe des composés phénoliques; les phénylpropanoïdes, aussi bien que plusieurs d'autres classes des composés phénoliques. Ceci exige la conversion de l'acide chorismique en acide préphénique, catalysée par la chorismate mutase et en acide arogénique catalysé par le préphénate aminotransférase (Wilfred et Nicholson, 2008).

II.4.2. La voie de l'acide malonique (acétate)

L'acide malonique est issu de la glycolyse et de la β -oxydation, qui ont comme conséquence la formation de l'acétyl CoA. Les chaînes polycétoniques obtenues par condensation répétée d'unités «Acétate» subissent à la cyclisation via la voie de l'acide malonique. Conduisant à la formation de l'intermédiaire polyéthylcétone, qui donne avec l'acide cinnamiques les chalcones, puis les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins condensés (Fleeger et Flipse, 1964; Richter, 1993).

II.5. Activités biologiques des polyphénols

II.5.1. Activité antioxydante

Les polyphénols et autres antioxydants protégeaient les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs en éliminant les radicaux libres. Cependant, ce concept semble maintenant être une vue trop simplifiée de leur mode d'action (Azzi et *al.*, 2004). Plus probablement, les cellules répondent aux polyphénols principalement par des interactions directes avec des récepteurs ou des enzymes impliqués dans la transduction du signal, ce qui peut entraîner une modification de l'état redox de la cellule et peut déclencher une série de réactions redox-dépendantes (Halliwell et *al.*, 2005; Forman et *al.*, 2002).

II.5.2. Autres activités

Les composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Ces substances jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement biologique et physique. Les fonctions principales attribuées à ces composés sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV (El Hadrami et *al.*, 1997).

Les polyphénols alimentaires exercent des effets préventifs dans le traitement de l'asthme (Tabak et *al.*, 2001; Woods et *al.*, 2003). L'apport de polyphénols est également signalé comme bénéfique dans l'ostéoporose. La supplémentation de la génistéine, de la daidzéine ou de leurs glycosides pendant plusieurs semaines empêche la perte de la densité minérale osseuse et du volume trabéculaire causée par l'ovariectomie (Nakajima et *al.*, 2001). Les polyphénols protègent également les dommages cutanés induits par la lumière solaire (Kim et *al.*, 2001). Les théaflavines présentent dans le thé noir présentent une activité anti-VIH-1. Ces polyphénols ont inhibés l'entrée de cellules VIH-1 dans les cellules cibles. L'entrée du VIH-1 dans la cellule cible implique la fusion de la glycoprotéine (GP) et de l'enveloppe du virus avec la membrane cellulaire des cellules hôtes. Les unités de répétition de Haptad présentent aux bornes N et C de GP41 (protéine membranaire) sur l'enveloppe virale, fusionnent pour former le noyau GP41 de fusion active, qui est un faisceau à six hélices. On a trouvé que les théaflavines bloquaient la formation de ce faisceau à six hélices nécessaire à l'entrée du virus dans l'hôte (Sharma et Rao, 2009). Le théaflavine 3 3'-digallate et le théaflavine 3-gallatase sont avérés inhiber le virus corona du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). Cette

activité antivirale est due à l'inhibition de la protéase de type chymotrypsine qui est impliquée dans le traitement protéolytique pendant la multiplication virale (Sharma et Rao, 2009).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

II.6. *Eucalyptus globulus*

II.6.1. Présentation

L'*Eucalyptus globulus* est un très grand arbre dont le tronc s'exfolie en lambeaux et qui est caractérisé par un dimorphisme foliaire très marqué : feuilles des jeunes pousses et des rejets opposées, sessiles, vert glauque, cireuses, à limbe arrondi; feuilles des rameaux âgés alternes, courtement pétiolées, vert grisâtre, coriaces, pendantes, à limbe falciforme (figure 2). La fleur possède quatre sépales, rugueux et cireux, soudés en une urne à quatre pans dont le «couvercle», formé par les quatre pétales soudés, se détache à l'anthèse et de nombreuses étamines (Bruneton, 2009). Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Ghedira et al., 2008). L'espèce, d'origine australienne, a été introduire dans de nombreuses régions du monde, y compris en Europe (zone méditerranéenne) où elle est largement plantée (Bruneton, 2009).



Figure 2 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* (Shah et al., 2012).

II.6.2. Classification

La classification botanique d'*Eucalyptus globulus* est la suivante : (Ghedira et al., 2008).

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus*

II.6.3. Propriétés thérapeutiques

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont une odeur balsamique et une saveur fortement aromatique et résineuse. Elles possèdent des propriétés astringentes, fébrifuges, anticatarrhales et antiseptiques. L'infusion ou la décoction de feuilles concassées est efficace contre les fièvres intermittentes rebelles, utile également contre les bronchites avec expectoration abondantes. Les feuilles fraîches mâchées calment les maux de dents. Les feuilles et les étamines sont utilisées en fumigation ou en guise de cigarettes pour soulager des cas d'asthme (Beloued, 2005).

II.7. *Malva sylvestris*

II.7.1. Présentation

Malva sylvestris est une plante herbacée bisannuelle à tiges dressées ou ascendantes, haute de 30 à 50 cm, faiblement velue. Ses feuilles sont orbiculaires, pétiolées, à 5 lobes plus ou moins profonds crénelées (figure 3). Les fleurs sont grandes à corolle large de 3 à 4cm, 3 à 4 fois plus longue que le calice, rose violacé strié; calcicule à pièces ovales-oblongues, plus courtes que le calice; calice

peu accrescent, à lobes largement triangulaire, ne cachant pas les carpelles à la maturité. Les fruits sont composés d'akènes disposés en disque, d'environ 1cm de diamètre (Beloued, 2005).



Figure 3: Parties aériennes de *Malva sylvestris* L (Ghédira et Goetz, 2016).

II.7.2. Classification

La classification botanique de *Malva sylvestris* est la suivante: (Ghédira et Goetz, 2016).

Règne : Plantae

Super division : Embryophyta

Division : Tracheophyta

Subdivision : Spermatophytina (Spermatophytes)

Classe : Magnoliopsida

Super ordre : Rosanae

Ordre : Malvales

Famille : Malvaceae

Genre : *Malva*

Espèce : *Malva sylvestris* L

II.7.3. Propriétés thérapeutiques

La mauve est un ancien légume, autant qu'un ancien médicament. Ce sont les feuilles et les fleurs qu'on utilise. On les indique principalement sous forme d'infusion ou de décoction des fleurs contre les maux de tête, la somnolence, la rétention d'urine et les maladies des reins. La mauve agit en qualité d'émolliente, d'adouçissante, calmante et diurétique (Beloued, 2005). Les feuilles ont une puissante activité anti inflammatoire, antioxydante avec piégeage des radicaux libres et s'oppose à la peroxydation lipidique dans les liposomes et les homogénats des cellules cérébrales, anti complémentaire, activité anticancéreuse et protectrice de l'intégrité des tissus de la peau (Gasparetto, 2012).

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

Deux plantes médicinales à savoir: *Eucalyptus globulus* et *Malva sylvestris* ont fait l'objet de notre étude. Leur sélection s'est faite sur la base de leur très grande présence et très large utilisation traditionnelle dans les régions méditerranéennes et plus particulièrement en Algérie (Beloued, 1998; Ernest, 2000; Damien et al., 2003). La récolte de ces plantes a été effectuée au niveau de la Wilaya de Jijel (figure 4), en mois d'Avril dans la région de Jijel et Sidi Maarouf (Tableau I).

Tableau I : Les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation.

Nom botanique	Famille	Région de récolte	Période de récolte
<i>E. globulus</i>	<i>Myrtaceae</i>	Sidi Maarouf	Avril 2017
<i>M. sylvestris</i>	<i>Malvaceae</i>	Jijel	Avril 2017

I.2. Préparation des extraits

I.2.1. Séchage

Après avoir été bien nettoyés et débarrassés des particules et de la poussière, les feuilles des deux plantes étudiées ont été séchées dans une étuve de type Memmert, à une température de 40°C pendant une semaine.

Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car les cellules végétatives contiennent des enzymes susceptibles de provoquer des modifications dans la composition phénolique de la plante. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide du matériel végétal, aussitôt après sa récolte (Ribéreau-Gayon, 1968).

I.2.2. Broyage

Les échantillons séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type Sub permettant d'obtenir des poudres très fines. Plus le diamètre de la poudre est petit, plus la surface

d'échange entre celle-ci et le solvant d'extraction est grand; donc le rendement d'extraction est meilleur (Diallo, 2004).

I.2.3. Tamisage

Une fois broyées, les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de type AFNOR-ASTM dont le diamètre des pores est inférieur à 100 μm . Les poudres ainsi obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, bien hermétique, à l'abri de la lumière (Ribéreau-Gayon, 1968).

I.2.4. Extraction des composés phénoliques

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques. Le méthanol s'avère le meilleur solvant, car il permet d'obtenir un meilleur rendement d'extraction et il possède l'avantage d'être plus facile à éliminer (Ribéreau-Gayon, 1968; Owen et Johns, 1999).

D'après Owen et Johns, (1999) le procédé général d'extraction a été réalisé selon les étapes suivantes :

I.2.4.1. Macération

100 g de la poudre de chacune des deux échantillons ont été ajustés à 1000 ml avec du méthanol 80%. Les mélanges ainsi obtenus sont soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur magnétique de type Heidolph (figure5) pendant 48h à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydations.

L'agitation permet le maintien des particules en suspension et l'homogénéité des milieux.

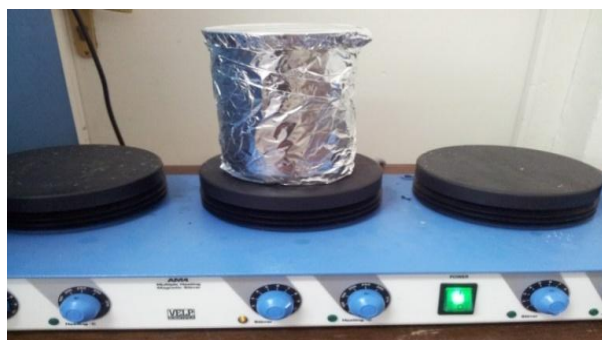


Figure 4 : Macération sous agitation magnétique.

I.2.4.2. Filtration et décantation

Après macération, les deux solutions des deux plantes ont été filtrées à l'aide de papier Whatman N°3 (figure 5). Chaque filtrat obtenu a été ajusté avec 200 ml d'hexane pour la delipidation. Les mélanges ont été par la suite décantés (figure 6) pour recueillir la phase méthanolique.



Figure5 : La filtration à l'aide du papier

Whatman N°3.

Figure6 : Délipidation et décantation

des extraits.

I.2.4.3. Evaporation

Les phases méthanoliques de chaque échantillon ont été évaporées à l'aide d'un rotavapeur de type Heidolph (figure 7) puis, ont été séchées à l'étuve à 40°C jusqu'à ce que le méthanol soit totalement évaporé. Chaque extrait a par la suite été repris avec la concentration désirée.



Figure 7 : Evaporation des extraits phénoliques.

Les extraits bruts végétaux ainsi constitués sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation pour les différents tests.

Le protocole général d'extraction des polyphénols est schématisé dans la figure (8).

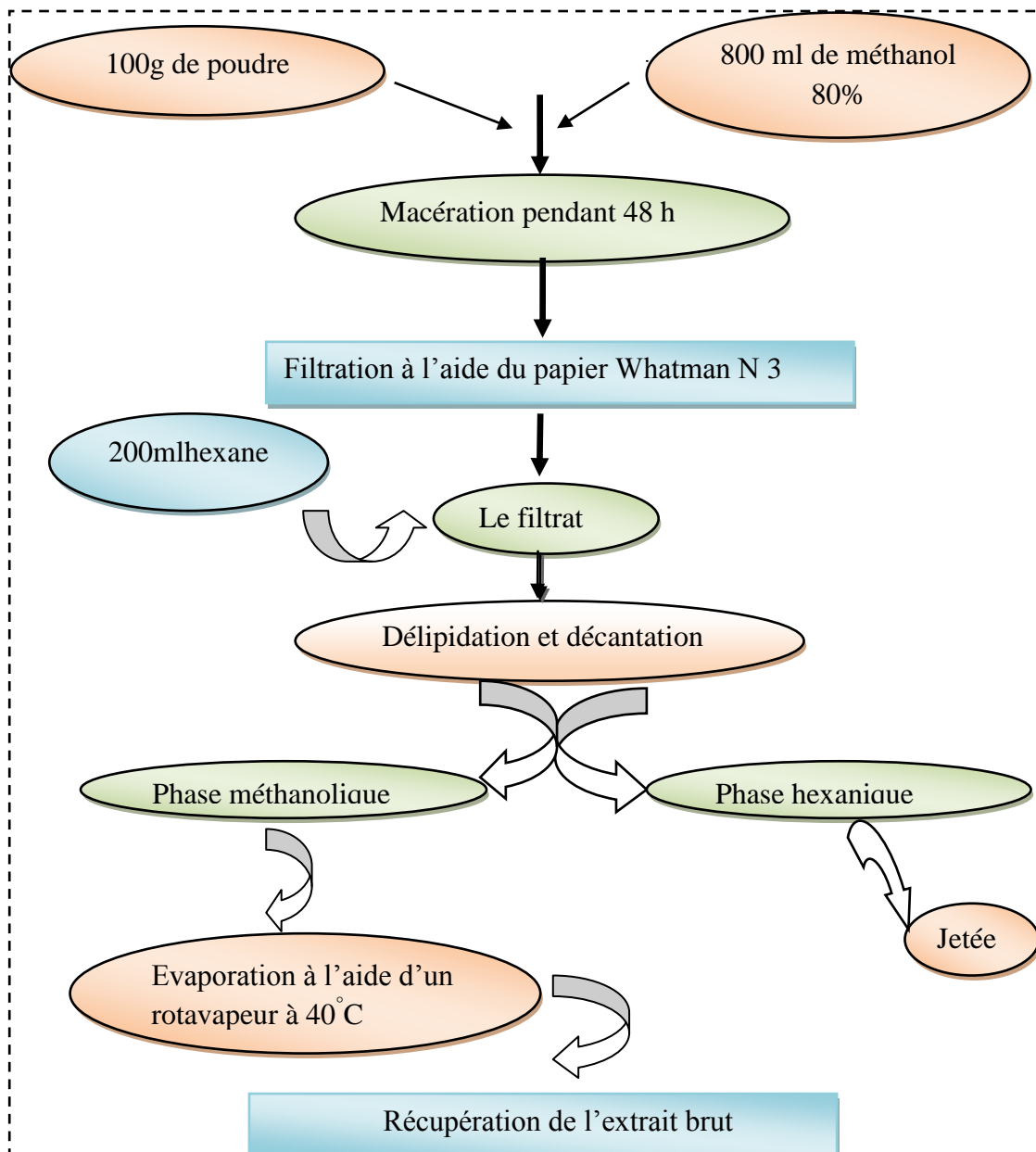


Figure 8 : Protocole général d'extraction des polyphénols.

I.2.5. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits méthanoliques est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée (Owen et Johns, 1999). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_s}{P_p} \times 100$$

Où :

P_s : Poids de l'extrait sec en gramme (g).

P_p : Poids de la poudre en gramme (g).

I.2.6. Dosage des polyphénols

Les polyphénols ont été déterminés spectrophotométriquement par la méthode de Folin Ciocalteu (Heilerova et *al.*, 2003). 0,2 ml de l'extrait méthanolique dilué (250 µg/ml) ont été additionnés avec 1,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10). Le mélange est laissé reposer 5 minutes à l'obscurité. Par la suite, 1,5 ml de la solution Na₂CO₃ (7,5%) a été ajouté à l'ensemble. Après 90 minutes d'incubation à 23°C, l'absorbance a été mesurée à 750 nm contre un blanc sans extrait. Le procédé est répété cinq fois.

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = aX + b$) réalisée par un extrait étalon, l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait brute (mg EAG/g EB).

Le mode opératoire pour le dosage des polyphénols totaux est schématisé dans la figure (9).

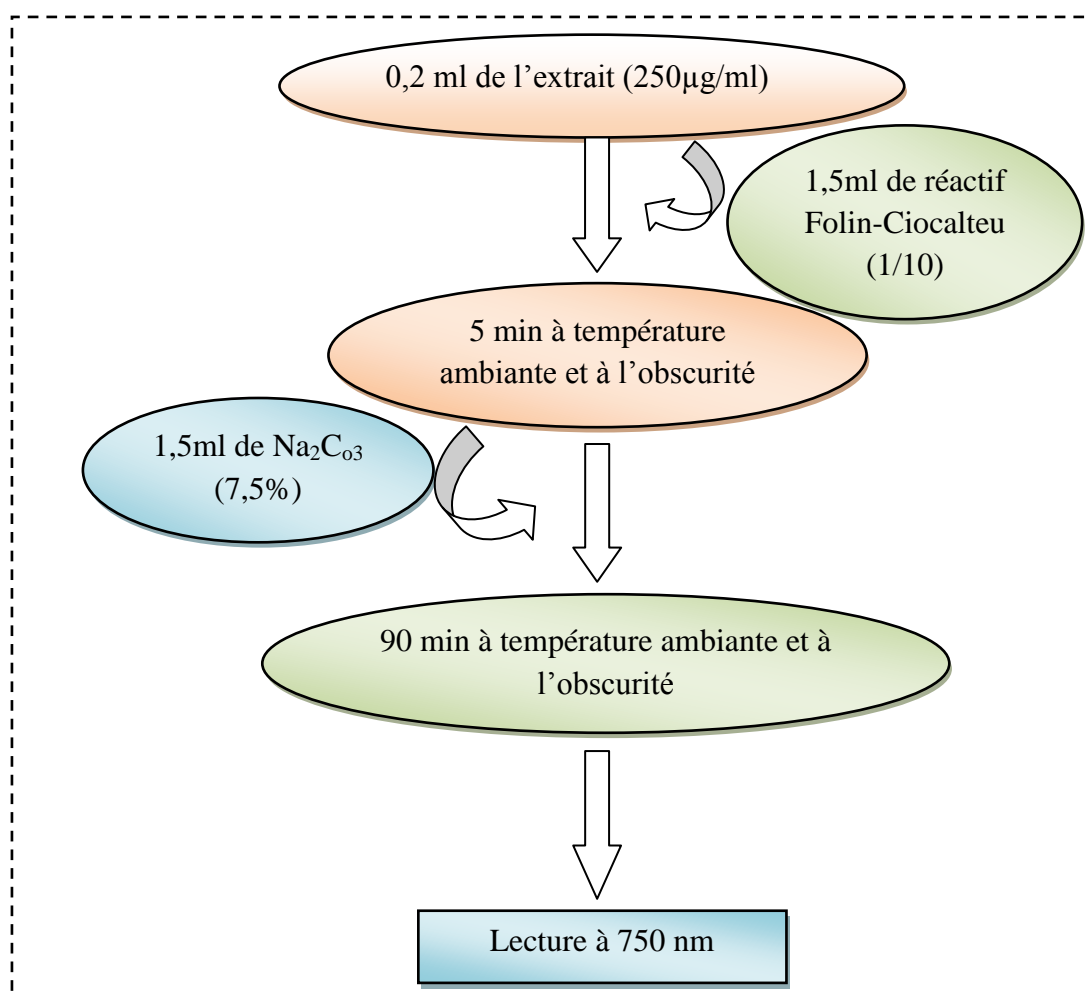


Figure 9 : Protocole de dosage des composés phénoliques.

I.2.7. Dosage des flavonoïdes

La méthode au AlCl₃ a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes (Huang et *al.*, 2004).

Un millilitre et demi (1,5ml) de l'extrait phénolique (2mg/ml) a été ajouté à un volume égal d'une solution de 2% AlCl₃. Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance a été lue à 430 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante.

Une courbe d'étalonnage ($Y = aX + b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons a servi pour la quantification

des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait brute (mg EQ/g EB). On utilise cinq répétitions.

Le protocole de dosage des flavonoïdes est présenté dans la figure (10).

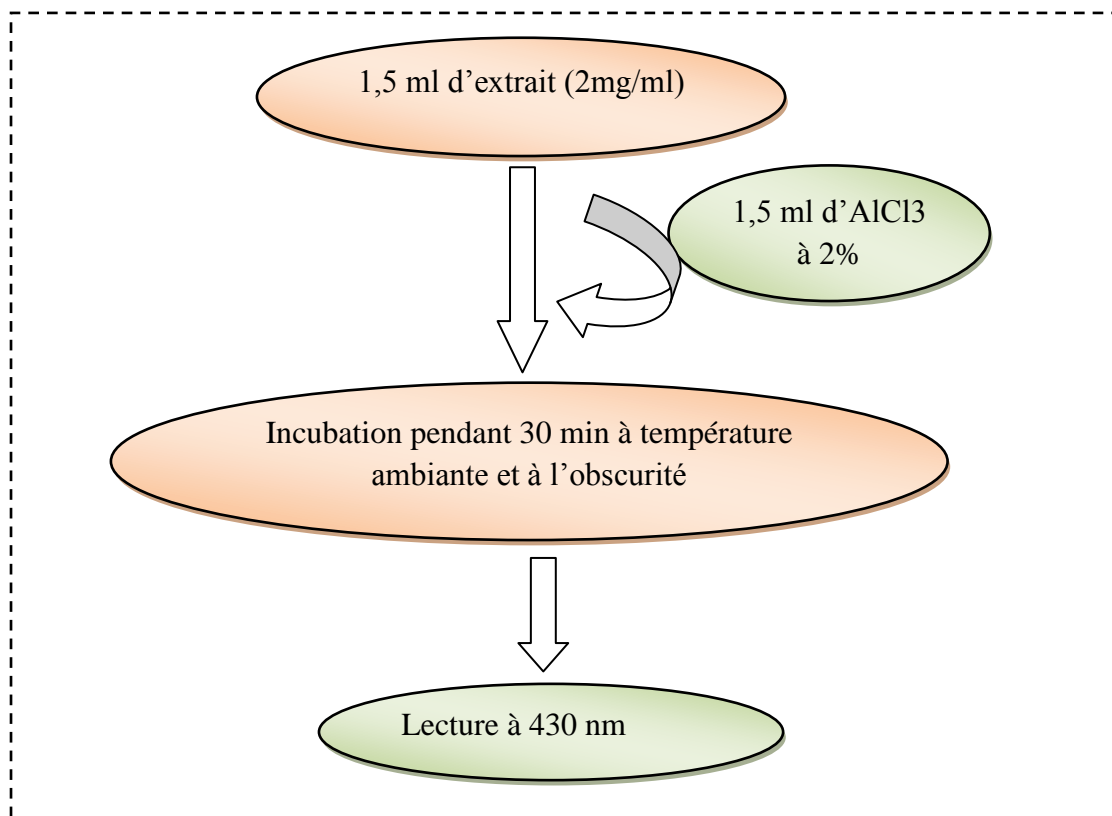


Figure 10 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

I.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des plantes étudiées

I.3.1. Pouvoir antiradicalaire

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution. Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

Pour réaliser l'analyse, 2,9 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,025 g/l) est ajouté à 100 µl de la solution de chaque extrait à différentes concentrations (12,5, 25, 50, 100 et 200 µg/ml). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm. Pour chaque concentration, on utilise cinq répétitions.

Le protocole d'évaluation du pouvoir antiradicalaire est illustré par la figure (11).

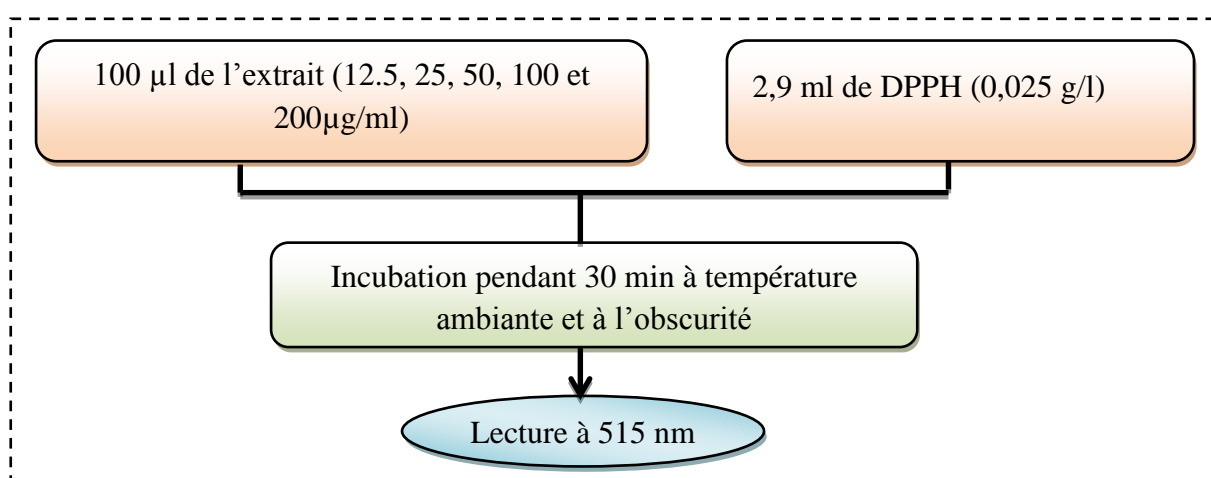


Figure 11 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = (A_T - A_E / A_T) \times 100$$

Où :

A_T : Absorbance du témoin après 30 min d'incubation.

A_E : Absorbance de l'échantillon après 30 min d'incubation.

I.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction, dont la réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène : le ferricyanure de

potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro *et al.*, 2008). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Balasundram *et al.*, 2005).

La détermination du pouvoir réducteur a été réalisée selon la méthode d'Oyaizu (1986) décrite par Hseu et ses collaborateurs (2008) avec une légère modification. Un volume de 1ml de chaque extrait, à différentes concentrations, est ajouté à 2 ml de tampon phosphate (0,2 M; pH= 6,6) et à 1ml de ferricyanure de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1 % et après agitation, le mélange est soumis à l'incubation à 50°C pendant 20 min à l'abri de la lumière. 1ml de trichloracétique à 10 % est additionné au mélange. Après centrifugation à 3000 tr/ mn pendant 10 min, un volume de 1,5 ml de surnageant est ajouté à 1,5 ml d'eau distillée et 150 µl de chlorure ferrique (0,1 %). Le mélange homogénéisé préalablement, est incubé pendant 10 min à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est lue à 700 nm. Pour chaque concentration, les tubes sont répétés cinq fois. Le protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des différents extraits ainsi que celui du standard est illustré par la figure 12.

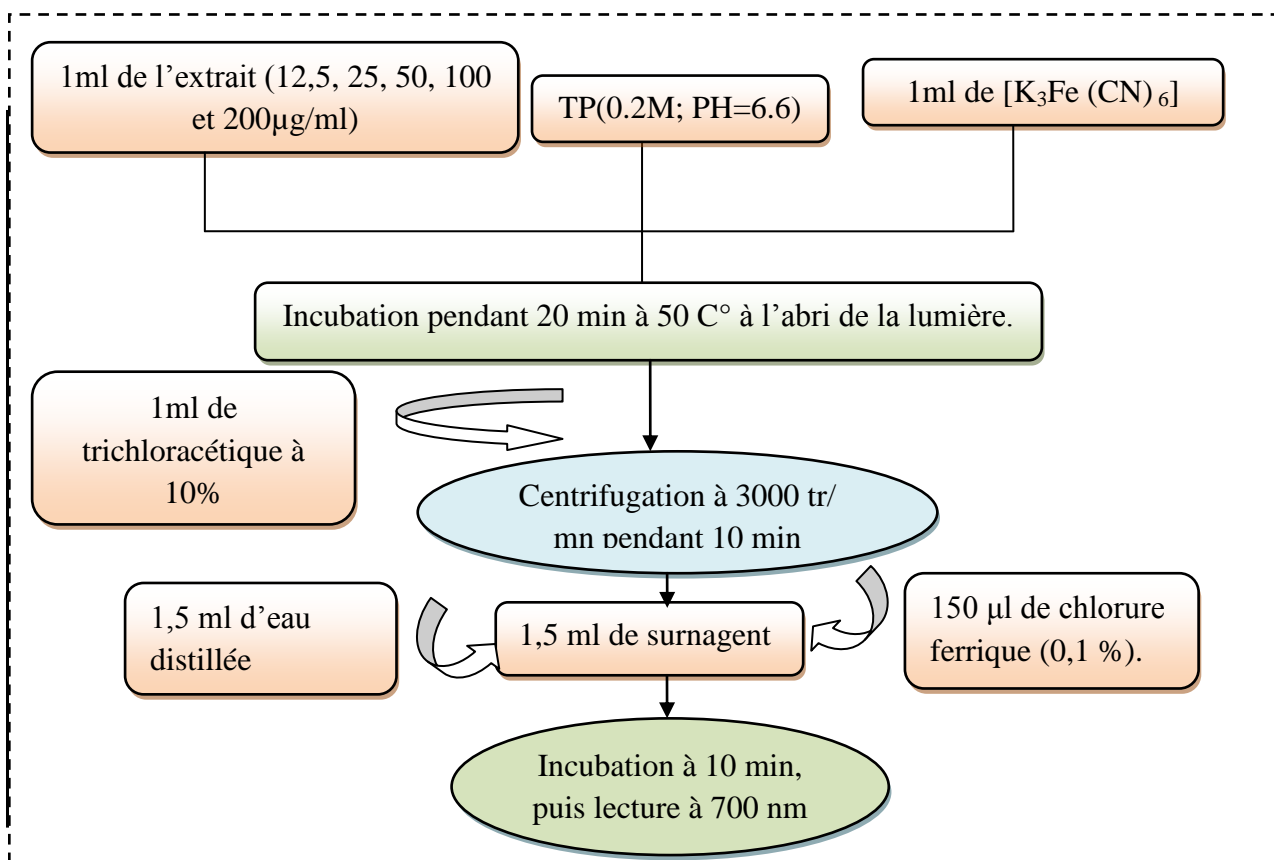


Figure 12 : Protocole d'étude de pouvoir réducteur fer.

I.3.3. Neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La capacité des extraits méthanoliques des feuilles d'*Eucalyptus globulus* et de *Malva sylvestris* à neutraliser le peroxyde d'hydrogène a été déterminée selon la méthode de Brands Williams *et al.*, (1995) avec quelques modifications. Des tubes à essai ont été préparés avec 2,0 ml de divers extraits de plante (12,5, 25, 50, 100 et 200 µg/ml) et une solution du H₂O₂ (1,2 ml, 40 mM) dans la solution tampon de phosphate (pH = 7,4; 0,1M). Le blanc a été préparé avec la même manière mais sans H₂O₂. Un contrôle a été préparé contenant seulement de H₂O₂ (sans extrait). Après incubation pendant 10 min, l'absorbance a été enregistrée à 230 nm. Il ya cinq répétitions pour chaque concentrations.

Le pourcentage de neutralisation de H₂O₂ est calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_0 - A/A_0) \times 100$$

Tel que :

A est l'absorbance de l'extrait

A₀ est l'absorbance du contrôle (Atmani *et al.*, 2009).

Le protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des différents extraits ainsi que celui des standards est illustré par la figure 13.

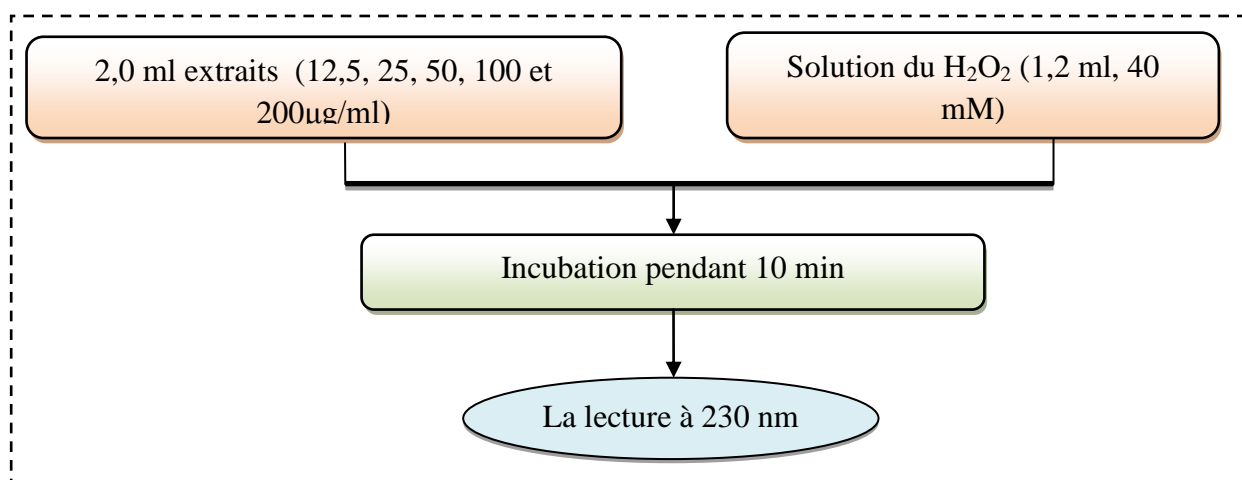


Figure 13 : Protocole d'étude de Pouvoir réducteur H₂O₂.

I.4. Analyse statistique

Les moyennes et les écarts types sont calculés à partir de cinq essais avec Excel de Microsoft Office 2007.

L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test t de *Student*. La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

$p > 0,05$ = la différence n'est pas significative (ns);

$0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative (*).

Résultats et interprétations

II. Résultats et interprétations

II.1. Les rendements des extraits phénoliques

L'extraction hydrométhanolique des composés phénoliques des deux plantes étudiées, nous a permis de déterminer les rendements de leurs extraits bruts (Figure 14).

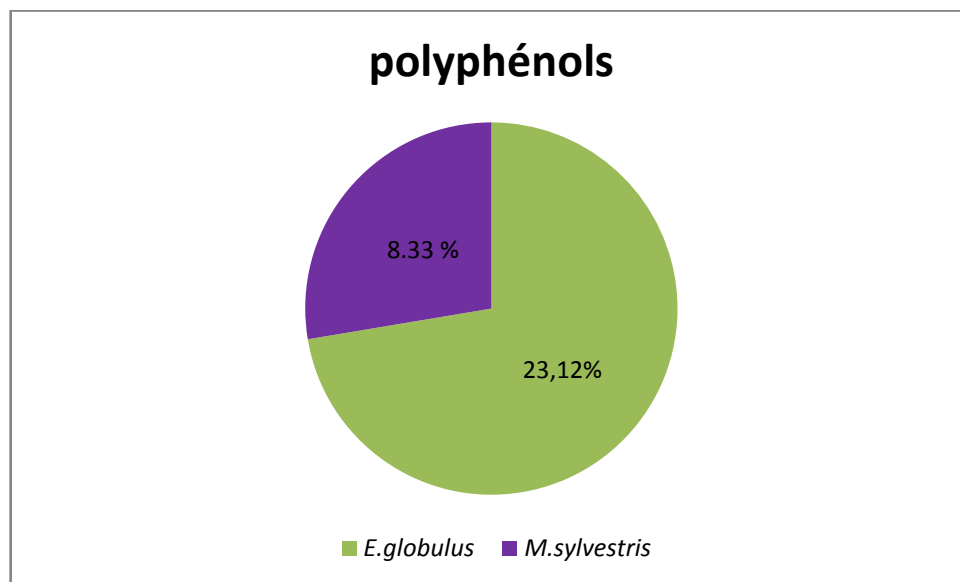


Figure 14 : Les rendements des extraits bruts de *M. Sylvestris* et d'*E. globulus*.

Nous n'avons constaté que le rendement de l'extrait brut d'*E. globulus* (23,12%) est supérieur à celui de *M. Sylvestris* (8,83 %).

II.2. Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des différents extraits

L'étude quantitative des extraits phénoliques au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes. Deux courbes d'étalonnages (Figures 15 et 16) ont été tracées pour cet objectif, une réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations (dosage des polyphénols) et l'autre avec la quercétine (dosage des flavonoïdes).

Des mesures de densité pour chaque extrait sont réalisées à 750 nm et 430 nm pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement.

Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes ont été rapportées en mg équivalent de l'étalon utilisé par gramme d'extrait brut et sont déterminées par les deux équations de type : $Y=aX+b$.

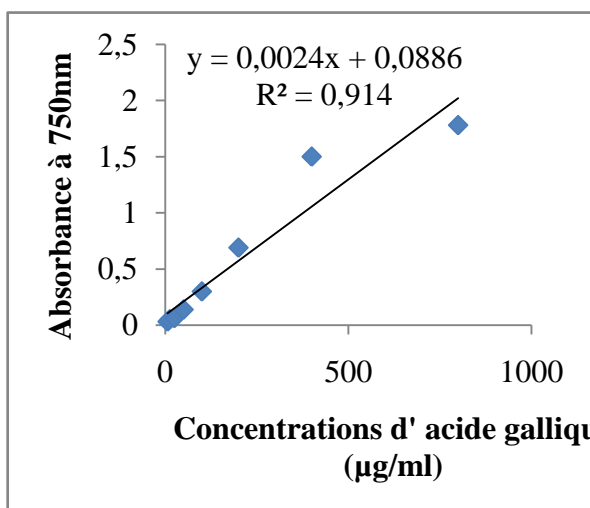


Figure 15 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

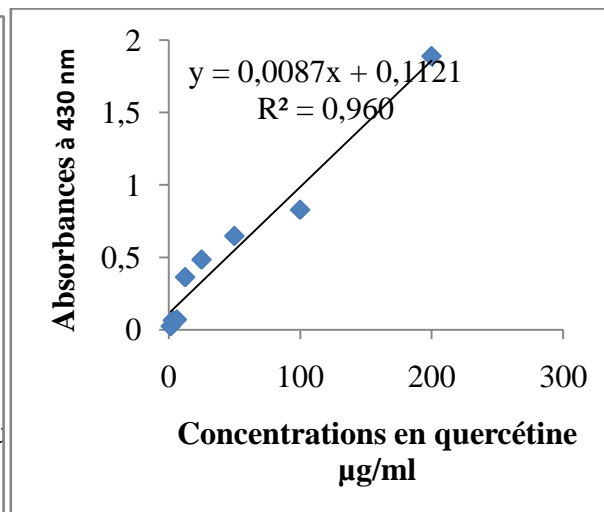


Figure 16 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Les résultats de l'évaluation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des deux plantes étudiées.

	<i>M.sylvestis</i>	<i>E. globulus</i>
Polyphénols totaux (mg EAG /g EB)	117,043± 4,12	535,23±4,46
Flavonoïdes (mg EQ/g EB)	48,0933 ±0,79	121,85 ± 1,24

Les résultats obtenus présentés dans le tableau II montrent que l'extrait méthanolique d'*E. globulus* est le plus riche en polyphénols avec une teneur de 535,23±4,46 mg EAG /g EB. *M. sylvestis* a représentée une faible teneur de l'ordre de 117,043± 4,12 mg EAG /g EB.

En ce qui concerne la teneur en flavonoïdes, les résultats obtenus montrent qu'*E. globulus* dispose de la teneur la plus élevée (121,85 ± 1,24 mg EQ/g EB) par rapport à *M. sylvestris* (48,0933 ±0,79 mg EQ/g EB).

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits des deux plantes étudiées est faite par trois techniques chimiques, L'activité antiradicalaire DPPH, le pouvoir réducteur de Fe et la neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

II.3.1. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits d'*E. globulus* et *M. sylvestris* ainsi que du standard (α tocophérol) a été déterminées par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 17 :

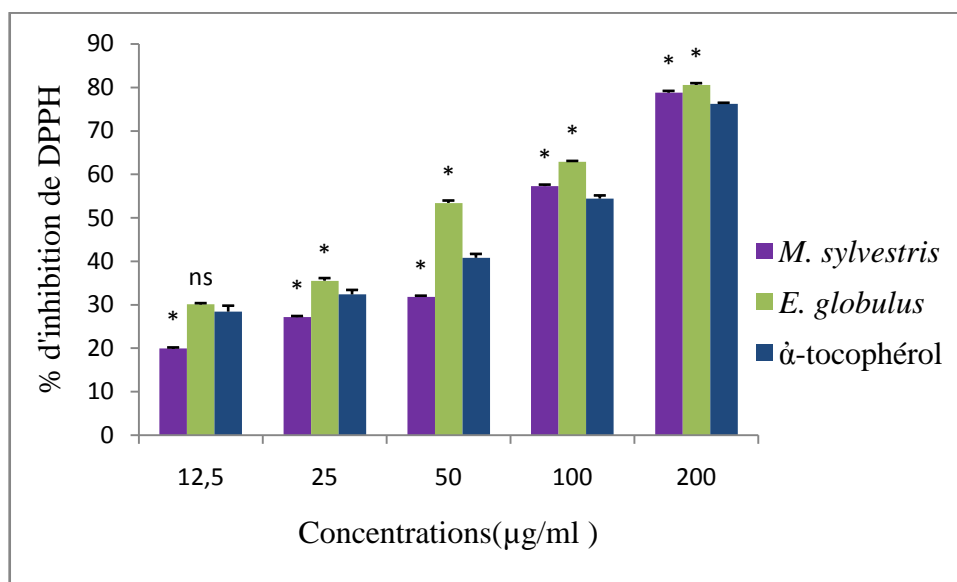


Figure 17 : Evaluation de l'activité antiradicalaire des deux extraits étudiés à différentes concentrations vis-à-vis de radical libre DPPH.

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits à différentes concentrations repose sur pourcentage d'inhibition de DPPH.

Les valeurs de l'activité antiradicalaire d'*E. globulus* varient entre 30.31% et 80.57% et ils sont de 19.99 % à 78.8 % pour *M. sylvestris*.

En constatant l'histogramme, nous voyons que *M. sylvestris* a toujours un pourcentage d'inhibition de DPPH inférieur au standard et c'est à partir de la concentration de 100µg/ml que nous avons un pourcentage supérieur au standard.

Pour l'extrait d' *E. globulus*, on observe une augmentation significative par rapport à l' α -tocophérol à partir de la concentration de 25 $\mu\text{g/ml}$. En constatant l'histogramme, nous voyons que *E. globulus* est toujours meilleur par rapport au standard, avec une augmentation dose dépendante de l'effet antiradicalaire.

Nous remarquons aussi qu'*E. globulus* a une activité antiradicalaire vis-à-vis de radical libre DPPH meilleur par rapport à *M. sylvestris* à différentes concentrations ($p < 0.05$).

I.3.2. Pouvoir réducteur

La figure 18 représente les résultats obtenus de pouvoir réducteur fer des extraits bruts des deux plantes et de l' α -tocophérol.

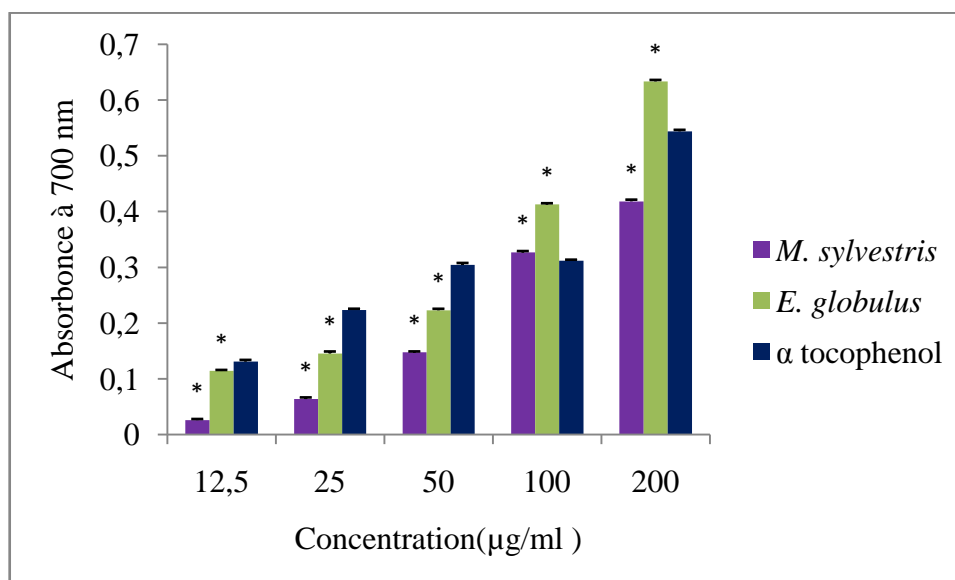


Figure 18 : Pouvoir réducteur de fer des deux extraits et du standard à différentes concentrations.

L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits à différentes concentrations repose sur le moyen de la D.O de fer. Les valeurs du pouvoir réducteur Fe d'*E. globulus* varient entre 0.11 et 0.63 et ils sont de 0.02 à 0.41 pour *M. sylvestris*.

Les résultats de la mauve montrent une augmentation significative à 100 $\mu\text{g/ml}$ par rapport à l' α -tocophérol.

Pour l'extrait d'*E. globulus*, on observe une augmentation significative à partir à 100 $\mu\text{g/ml}$ par rapport à l' α -tocophérol. Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique d'*E. globulus* est meilleur par rapport à celui de *M. sylvestris* à différentes concentrations.

I.3.3. Neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La Figure 19 représente les résultats obtenus de Pouvoir réducteur de H₂O₂ des deux extraits et du standard à différentes concentrations.

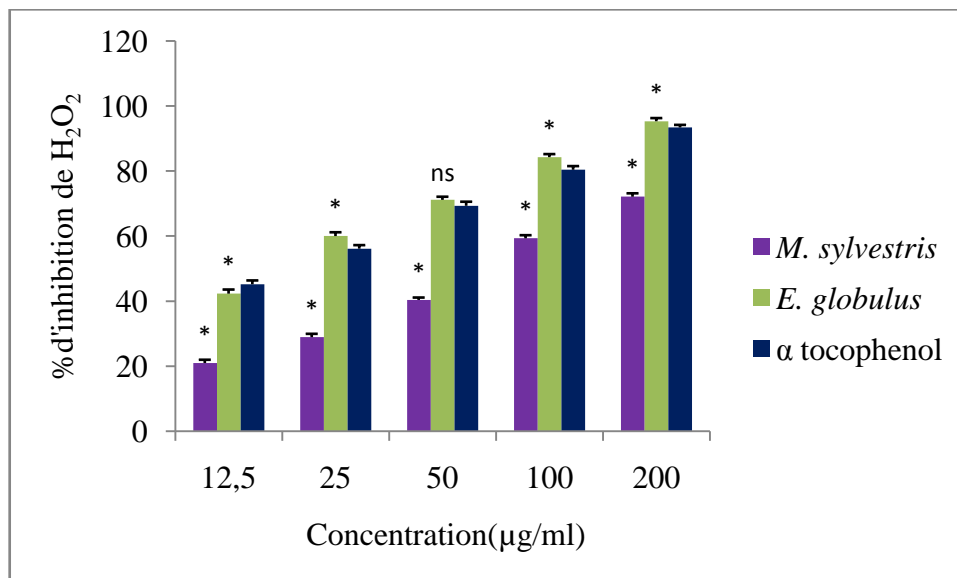


Figure 19 : Pouvoir réducteur de H₂O₂ des deux extraits et du standard à différentes concentrations.

L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits à différentes concentrations repose sur le pourcentage d'inhibition de H₂O₂. Les valeurs du pouvoir réducteur de H₂O₂ de *E. globulus* varient entre 42.32% et 95.33% et ils sont de 20.98% à 72.14 % pour *M. sylvestris*.

L'analyse statistique indique que la capacité des deux plantes à neutraliser le peroxyde d'hydrogène en fonction de la concentration de chaque plantes est significative ($p < 0,05$).

Pour l'extrait d'*E. globulus*, on observe une augmentation significative à partir de la concentration de 25 µg/ml par rapport à l' α -tocophérol. Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique d'*E. globulus* est meilleur par rapport à celui de *M. sylvestris* à différentes concentrations.

Discussion

III. Discussion

Dans notre étude nous avons choisi deux plantes médicinales à savoir: *E. globulus* et *M. Sylvestris*. Ces deux plantes sont très utilisées dans la région de Jijel en médecine traditionnelle.

Pour valoriser cette utilisation traditionnelle nous avons effectué l'extraction des polyphénols à partir des poudres des feuilles de chacune des plantes par macération dans le méthanol.

Nous avons quantifié les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux et évalué l'activité antioxydante *in vitro* par trois techniques chimiques, le pouvoir antiradicalaire DPPH, le pouvoir réducteur de Fe et la neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Après la préparation des deux extraits méthanoliques, nous avons constaté que le rendement d'extraction a été plus élevé dans l'extrait brut d'*E. globulus* (23,12%) par rapport à celui de *M. Sylvestris* (8,83%). Ceci a été confirmé par Boulekbache, (2016) qui a trouvé un rendement de l'ordre de (24,37 %). D'autres auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante (Sun *et al.*, 2007).

Le rendement d'extraction peut être lié aux conditions climatiques de culture à savoir la température, taux d'exposition au soleil, sécheresse, salinité, pratiques culturales, la maturité à la récolte et les conditions de stockage (Falleh *et al.*, 2008; Podsedek, 2007; Turkmen *et al.*, 2007).

Nos résultats ont montré que la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des deux extraits est variable selon la région de récolte. Nous avons constaté que l'extrait méthanolique d'*E. globulus* a été le plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Les teneurs en phénols et flavonoïdes totaux trouvées par Barros *et al.*, (2010) chez *M. Sylvestris* ont été de l'ordre de (386.45 ± 8.54 mg EAG/g EB, 210.81 ± 7.99 mg EQ/g EB respectivement). La richesse d'*E. globulus* en polyphénols a été confirmée par Bey-Ould Si Said, *et al.*, (2016) avec des teneurs de l'ordre de (432.63 ± 4.59 mg EAG/g EB, 30.65 ± 0.02 mg EQ/g EB) qui sont nettement inférieures à nos résultats (535,23 ± 4,46 mg EAG/ g EB, 121,85 ± 1,24 mg EQ/g EB respectivement). D'autres travaux réalisés par Abu-Qatouseh *et al.*, (2013) ont montré des teneurs plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes chez *E. globulus* de l'ordre de (643.94 ± 0.84 mg EAG/g EB, 153.54 ± 1.12 mg EQ/g EB respectivement) par ailleurs chez *M. Sylvestris* ces teneurs ont été de l'ordre de (135.55 ± 1.18 mg EAG/g EB, 52.4 ± 0.77 mg EQ/g EB). Ces teneurs sont nettement supérieures à nos résultats.

La variation des quantités en composés phénoliques d'*E. globulus* observée durant cette étude peut être due à la régulation de leur synthèse et leur accumulation qui est influencée par des facteurs environnementaux (climat, sol) (Armando et al., 1997; Dugald et al., 2004).

L'activité antiradicalaire des extraits bruts des deux plantes a été évaluée par la méthode au DPPH. Notre étude a montré qu'*E. globulus* a présenté un effet antiradicalaire très puissante. par comparaison avec l'activité antiradicalaire de α -tocophérol. Cela nous indique qu'*E. globulus* présente vraiment une forte activité antiradicalaire. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Barros et al., (2010) qui a trouvé un pourcentage d'inhibition de DPPH de $0.43 \pm 0.05\%$ chez *M. Sylvestris*. Pour *E. globulus*, Bey-Ould Si Said, et al, (2016) ont trouvé un pourcentage de l'ordre de $69,47 \pm 0,21\%$. Cette forte activité peut être expliquée par l'action des antioxydants qui est supposée être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (Le et al., 2007) et par le taux des polyphénols ce qui est en accord avec les travaux de Mariod et al.,(2009); Locatelli et al.,(2010) et Halmi, (2015) qui ont observé une forte corrélation entre l'activité anti-radicalaire et le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes.

La détermination du pouvoir réducteur de Fe des feuilles d'*Eucalyptus globulus* et de *Malva sylvestris* a été réalisée selon la méthode d'Oyaizu (1986) décrite par Hseu et ses collaborateurs (2008). Nos résultats ont montré qu'*E. globulus* présente une activité réductrice très puissante. par comparaison avec l'activité réductrice de l' α -tocophérol. Cela nous indique qu'*E. globulus* présente vraiment une forte activité réductrice. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Bey-Ould Si Said, et al, (2016) avec une valeur de l'ordre de $1,26 \pm 0,03$ à $125 \mu\text{g/ml}$. Selon Barros et al., (2010), chez *Malva sylvestris* le pouvoir réducteur a été de l'ordre de 0.07 ± 0.00 . Ceci peut être expliqué par la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables qui sont les polyphénols (Ferreira et al., 2007).

La capacité des extraits méthanoliques des feuilles d'*E. globulus* et de *M. sylvestris* à neutraliser le peroxyde d'hydrogène a été déterminée selon la méthode de Brands Williams et al., (1995). A partir de notre étude, nous avons constaté qu'*E. globulus* a présenté une activité inhibitrice très puissante. Par comparaison avec l'activité inhibitrice de l' α -tocophérol, nous avons observé que le pourcentage d'inhibition d'*E. globulus* a été le plus supérieur. Cela nous indique

qu'*E. globulus* présente vraiment une forte activité réductrice. Ces résultats ont été confirmés par Bey-Ould Si Said, *et al.*, (2016) qui a trouvé un pourcentage de l'ordre de $43.20 \pm 0,00\%$ à $65 \mu\text{g/ml}$. Ceci peut être expliqué par la présence de bons donneurs d'électrons, ce qui permet l'accélération de la conversion du H_2O_2 en H_2O et donc l'élimination du H_2O_2 (Shon *et al.*, 2007; Atmani *et al.*, 2009).

Conclusion

Conclusion

Ce travail avait pour objectif le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux de deux plantes médicinales de la région de Jijel (*E. globulus* et *M. Sylvestris*) ainsi que l'évaluation *in vitro* activités antioxydantes des extraits méthanoliques des deux plantes.

L'étude phytochimique a indiqué la richesse des feuilles de l'espèce *E. globulus* en composés phénolique totaux et en flavonoïdes par rapport a l'espèce de *M. Sylvestris*.

Les extraits des deux plantes médicinales traitées dans ce travail, et qui sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques, présentent des propriétés antioxydantes non négligeables.

Le rendement en extrait sec méthanoliques des feuilles d'*E. globulus* (23.12%) est légèrement supérieur à celui des feuilles de *M. Sylvestris* (8.33%).

D'après les résultats du dosage, on ne constate qu'*E. globulus* est la plante la plus riche en polyphénols totaux avec une valeur de $535,23 \pm 4,46$ mg EAG/g EB suivie par *M. Sylvestris* qui a une teneur plus faible $117,043 \pm 4,12$ mg EAG/g EB.

Concernant la teneur en flavonoïdes totaux, les feuilles d'*E. globulus* enregistrent la plus forte teneur $121,85 \pm 1,24$ mg EQ/g EB par rapport aux feuilles de *M. Sylvestris* qui sont les moins riches en flavonoïdes totaux $48,0933 \pm 0,79$ mg EQ/g EB.

L'activité antioxydant des extraits des deux espèces testées est évaluée par trois techniques chimiques: l'activité antiradicalaire DPPH, le pouvoir réducteur de Fe et la neutralisation du radical peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'activité antioxydant varie selon l'extrait méthanolique testé et les extraits exercent une activité dose-dépendante.

La méthode de DPPH a montré que l'*E. globulus* a un pouvoir antiradicalaire vis-à-vis de radical libre DPPH meilleur par rapport à *M. sylvestris*. L'activité antiradicalaire des extraits suit le même ordre que celui des teneurs en polyphénols : *E. globulus* > *M. sylvestris*. Le pouvoir réducteur du fer des extraits suit l'ordre de : *E. globulus* > *M. sylvestris*. L'*E. globulus* a un pouvoir de neutralisante de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) plus supérieur a celui de *M. sylvestris*.

D'après nos résultats, on peut conclure qu'il y a une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante, calculée par les trois méthodes différentes. Alors cette coordinance confirme que l'activité antioxydante d'*E. globulus* et *M. sylvestris* étudiées est due principalement à leur composition phénolique, ce qui est confirmé par les recherches bibliographiques qui ont démontré que les composés phénoliques sont des donneurs puissants de proton dans les légumes et les fruits.

Dans le but de compléter ce travail et sachant que la wilaya de Jijel possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, nous proposons les perspectives suivants:

- Evaluation *in vivo* de l'activité antioxydante des deux plantes étudiées.
- Caractérisation quantitative des composés polyphénoliques issus de différentes sources: fruits, racine.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abu-Qatouseh, L. F., Boutennoune, H., Boussouf, L., Madani, K., Shihab, P., Al-Qaoud, K. 2013. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to urease inhibitory effects of polyphenolic extracts of local herbs from Algeria. *The international arabic journal of antimicrobial agents*, 3(4):4. doi: 10.3823/741.
- Adlercreutz, H., Mazur, W. (1997). Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annals of medicine*, 29:95–120.
- Ahmadi, F., Kadivar, M., Shahedi, M. (2007). Antioxydant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaffin model systems. *Food chemistry*, 105: 57-64.
- Alcaraz, M. J., Gualillo, O., Sánchez-Pernaute, O. (2013). *Studies on Arthritis and Joint Disorders*. Springer New York.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N. (2003). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta Ccacia*, 76 (1): 55-61.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. Özyurt., D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12: 1496-1547.
- Armando, J.D., Silvestre, J. Cavaleiro, A.S., Delmond, B., Filliatreb, B., Bourgeois, B. (1997). Analysis of the variation of the essential oil composition of *E. globulus Labill.* from Portugal using multivariate statistical analysis, *Industrial Crops and Products*, 6: 27-33.
- Atmani, D. Chaher, N. Berboucha, M. Ayouni, K. Lounis, H. Boudaoud, N. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112: 303-309.
- Azzi, A., Davies, K.J.A., Kelly, F. (2004). Free radical biology: terminology and critical thinking. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 558: 3– 6.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*; 46: 1086-1089.

- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine sciences*, 22: 266–272.
- Barros, L., Carvalho, N.M., Ferreira, I. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris* : A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1466–1472.
- Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d’Algérie. *Office des publications universitaires*. P88-152.
- Beloued, A. (2005). Plantes médicinales d’Algérie. Alger : *office des publication universitaires*, P88-132. ISBN : 9961.0.0304.7.
- Bey-Ould Si Said, Z., Slimani, S., Remini, H, Idir-Himed, H., Mazauric, J, Madani, k., Boulekbache-Makhlouf, L. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Eucalyptus globulus*: A comparative study between fruits and leaves extracts. *SDRP Journal of Chemical Engineering and Bioanalytical Chemistry*, 1: 1-10.
- Boulekbache-Makhlouf, L. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Eucalyptus globulus*: A comparative study between fruits and leaves extracts. *SDRP Journal of Chemical Engineering and Bioanalytical Chemistry*, 1.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Cachan: médicales internationales Editions: *Technique et Documentation* [S.I.], P 647-673.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4^{ème} éd. Paris : *Editions Technique et documentation*, P261-663. ISBN: 978 -2-7430-1188-8.
- Cassidy, A., Hanley B.and Lamuela-Raventos R.M. (2000). Isoflavones, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 348: 1230-1238.
- Chiahi, N., Bouloudenine, M., Daira, N.E., Guerfi, N., Brinis, L. (2016). L’effet des nanoparticules ZnO sur les paramètres physiologiques et biochimiques chez le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *International Journal of Innovation and scientific Research*, 22 (1): 99-111.
- Clément, R.P. (2005). Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1^{ère} partie). *Phytothérapie*, 3(4): 171-175.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K. et al. (1998). Structure-activity Relation ship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61: 71-76.

- Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.
- Damien, D.H. J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm., Y., Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and Composition of aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistr*, 51: 4563-4569.
- De Groot, H., Rauen, U. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 12: 249–255.
- De Moffarts, B., Kirschvink, N., Pincemail, J., Lekeux, P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales de médecine vétérinaire*, 149: 1-9.
- Diallo, A.M. (2004). Etude des plantes médicinales de Niofunke (Région Tombouctou). Phytochimie et pharmacologie de *Maerua Crassifolia* Forsk (Capporidacée). Thèse de doctorat, *Université de Bamako. Mali*. P125.
- Dugald, C., Closea, B.C., Mc Arthura, B., Pietrzykowskia, E., Patersona, S. (2004). Evaluating effects of nursery and post-planting nutrient re-gimes on leaf chemistry and browsing of *eucalypt* seedlings in plantations. *Forest Ecology and Management*, 200: 101–112.
- El Hadrami, L., Ramos, T., El Bellaj, M., et al. (1997). A sinapic derivative as an induced defense compound of date plam against *Fusarium oxysporum* sp. *albedinis*, the agent bayoud disease. *Journal of Phytopathology*, 145: 329–333.
- Ernest S. et Paul, M. (2000). Cultures médicinales Canadienne. Conseil National de la recherche de Canada. P1-222.
- Falleh, h., ksouri, R., Chaieb, k., karray-bouraoui, N., Trabelsi, n., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 372-379.
- Favier, A. (2003). Le Stress Oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, P108-115.
- Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des Thymelaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle: *Gnidiainvolucrata* tend. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne. P242. Ferreira et al, 2007.

- Fleeger, J.L., Flipse, I.J. (1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of dairy science*, 47 (5): 535-8.
- Forman, H.J., Torres, M., Fukuto, J. (2002). Redox signaling. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 234 –235:49–62.
- Fraga, C.G. (2009). Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. *John Wiley and Sons Edition*, p 5-13.
- Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l’oxygène :Comment l’oxygène peut-il devenir toxique?. *L’actualité chimique*, 91-96.
- Gasparetto, J.C., Martins, C.A., Hayashi, S.S., et al. (2012). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris L.*: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 64: 172–89.
- Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (31): 6697-6703.
- Ghedira, K., Goetz, P. (2016). *Malva sylvestris L. (Malvaceae): Mauve*. *Phytothérapie*, 14: 68-72.
- Ghedira, K., Goetz, P., Jeune, R. (2008). *Eucalyptus globulus Labill.* *Phytothérapie*, 6: 197–200.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Medicale De Liege*, 62 (10): 628-638.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine 4^{ème} Ed. *Oxford University Press*.
- Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 268–276.
- Halmi, S. (2015). Etude botanique et phytochimique. Approche biologique et pharmacologique d’*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri de Constantine.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 16: 845-850.

- Heilerova, L., Buckova, M., Tarapcik, P., Silhar, S., Labuda, J. (2003). Comparaison of antioxidative activity data for aqueous extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis*), Oregano (*Origanum vulgare*), Thym (*thymus vulgaris*), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria*) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- Henrotin, Y. (2003). The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 11 (10): 747–755.
- Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. *De Boeck Supérieur*, p 280.
- Huang, D.J., Lin, C., Chen, H. J., Lin, Y.H. (2004). Antioxidant and proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L Lam Tainong 57). *constituents Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45:179-186.
- Jairam, V., Uchida, K., Narayanaswami, V. (2012). Pathophysiology of lipoprotein oxidation. In *Lipoproteins- Role in Health and Diseases. Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, édité par Sasa Frank and Gerhard Kostner, chap. 16.
- Kerio, L.C., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K. and Rotich, M.K. (2012). Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification. *Food Chemistry*, 131: 31–38.
- Kim, J., Hwang, J.S., Cho, Y.K., Han, Y., Jeon, Y.J., Yang, K.H. (2001). Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on UVA and UVB-induced skin damage. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 14: 11–19.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. and Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933.
- Laughton, M.J., Halliwell, B., Evans, P.J., Robin, J. and Hoult, S. (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*, 38(17): 2859-2865.
- Le, K., Chiu, F., Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105: 353-363.

- Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J.D., Martelli, A., Stevigny, C., Arlorio, M., (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemonte PGI): Impact of different roastingconditions. *Food Chemistry*, 1647-1655.
- Malešev, D., Kuntić, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions.*Journal of theSerbian chemical society*, 72(10): 921-939.
- Mariod, A.A., Ibrahim, R.M., Ismail, M., Ismail, N. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolicrich fractions obtainedfrom black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 306-312.
- Mc Kelvey, T.G., Hollwarth, M.E., Granger, D.N., Engerson, T.D., Landler, U., Jones, H.P.1988. Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase inischemic rat liver and kidney. *American Journal of Physiology*, 254: G753-760.
- Methorst, C., Huyghe, E. et les membres du Comité d'Andrologie et de Médecine Sexuelle de l'Association Française d'Urologie. (2014). Stress oxydant et infertilité masculine : Physiopathologie et intérêt thérapeutique des antioxydants. *Progrès en urologie*, 24: 4-10.
- Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J.P., Canaud, B. (2002).Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 (5): 201-208.
- Nakajima , D., Kim ,C.S., Oh, TW., Yang, C.Y., Naka, T., Igawa ,S., Ohta, F. (2001). Suppressive effects of genistein dosage and resistance exercise on bone loss in ovariectomized rats. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science*, 20: 285–291.
- Owen, P.L., Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 149-160.
- Parks, D.A., Williams, T.K., Beckman, J.S. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *American Journal of Physiology*, 254: G768-774.
- Pereira, D.M., Valentão, P., Pereira, J.A., Andrade, B.P. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14: 2202-2211.
- Rabaud, Ch., Tronel, H., Fremont, S., May, T., Canton, P., Nicolas , J.P. (1997). Radicaux libres et infection par le VIH. *Annales de Biologie Clinique*, 55 (6): 565-571.

- Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Kunoler, M. Schieber, A. (2008). Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Brazilian Mango (*Mangifera Indica L*) Varieties. *Agricultural and Food Chemistry*, 110: 620-626.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod. Paris. P: 317-436.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 4: 304-309.
- Richter, G. (1993). Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes, 322-323.
- Rochette, L., Vergely, C. (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie*, 1 (3): 131-139.
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- Sarni-Manchado, P., Cheynier V. (2006). les polyphénols en agroalimentaire. Paris: *Editions Technique et documentation*. P 21-398..ISBN : 2-7430-0805-9.
- Serrano, E., Diaz, J., Acosta, F., Palenciano, C.G., Parrilla, P., Carbonell, L.F. (2000). Oxidative stress during ischemia-reperfusion in liver transplantation. *Transplantation Proceedings*, 32(8): 2651.
- Shah, G., kaur, M., Singh, P., Rahar, S., Dhabliya, F., Arya, Y., Shri, R. (2012). Pharmacognostic Parameters of *Eucalyptus globulus* Leaves. *Pharmacognosy Journal*, 4:32-48.
- Sharma, V., Rao, L.J. (2009). A thought on the biological activities of black tea. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 379–404.
- Shipp, J., Abdel-Aal, El-S., M. (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal*, 4: 7-22.
- Shon, M., Lee, J., Choi, J., Choi, S., Nam, S., Seo, K., Lee, S., Sung, N., Park, S. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of *chungkukjang*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 113-118.

- Spencer, J.P., Abd El Mohsen, M.M., Minihaane, A.M., Mathers, J.C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, 99: 12–22.
- Sun, T., Powers, J.R., Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 105: 101-106.
- Tabak, C., Arts, I.C.W., Smit, H.A., Heederik, D., Kromhout, D. (2001). Chronic obstructive pulmonary disease and intake of catechins, flavonols, and flavones. The MORGEN study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164: 61–64.
- Tamion, F., Clabault, K., Bonmarchand. (2003). Ischémie–reperfusion mésentérique lors des états de choc: Principaux aspects physiopathologiques. *Réanimation*, 12: 441–448.
- Tiqwari, A.K. (2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*, 81 (9): 1179-1181.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2:1231-1246.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J. (2011). High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. *Chromatographic Science Series*, 477-478.
- Wilfred, V., Nicholson, R.L. (2008). Phenolic Compound Biochemistry. *Springer Edition*, P82.
- Wink, M., (1997). Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. *Advances in Botanical Research*, 25: 141–169.
- Woods, R.K., Raven, J.M., Wolfe, R., Ireland, P.D., Thien, F.C.K., Abramson, M.J. (2003). Food and nutrient intakes and asthma risk in young adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 414–421.
- Wu, S.B., Wu, Y.T., Ma, Y.S., Yau-Huei Wei, Y.H. (2011). Oxidative stress and its biochemical consequences in mitochondrial DNA mutation-associated diseases: implications of redox therapy for mitochondrial diseases. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*, P. 33-49.

Etude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Jijel

Présenté par : Habila Asma, Kitatni Kelthoum

Résumé

Dernièrement, un grand intérêt est accordé aux plantes médicinales à cause de leurs propriétés thérapeutiques démontrées. Dans le présent travail, les extraits phénoliques de *M. sylvestris* et *E. globulus* sont étudiés pour leurs teneurs en différents composés phénoliques et leur activité antioxydante. Les résultats obtenus dans cette étude révèlent qu'*E. globulus* avait relativement un rendement d'extraction plus élevé et une plus grande teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux par rapport à *M. sylvestris*. Cette étude a indiqué que l'évaluation de l'activité antioxydante par trois méthodes : l'activité de balayage des radicaux libres DPPH, le pouvoir réducteur de Fe, la capacité à neutraliser le peroxyde d'hydrogène, révèle un niveau plus élevé d'activité antioxydante dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*E. globulus* par rapport à *M. sylvestris*. En peut conclure qu'*E. globulus* analysé ici peut être considéré comme une bonne source de certains composés phénoliques et antioxydants et avait un grand potentiel d'utilisation en thérapeutique.

Mots clés : *E. globulus*, *M. sylvestris*, activité antioxydante, extraits méthanolique, composés phénoliques.

Abstract

Recently, a great deal of interest has been given to medicinal plants because of their demonstrated therapeutic properties. In the present work, the phenolic extracts of *M. sylvestris* and *E. globulus* were studied for their content of various phenolic compounds and their antioxidant activity. The results obtained in this study reveal that *E. globulus* had relatively higher extraction yield and a higher content of total polyphenols and total flavonoids compared to *M. sylvestris*. This study indicated that antioxidant activity evaluation using three methods: DPPH free radical scavenging activity, Fe power, ability to neutralize hydrogen peroxide, reveals a higher level of antioxidant activity in the methanolic extract of the leaves of *E. globulus* compared to *M. sylvestris*. It can be concluded that *E. globulus* may be considered as good source of some phenolic and antioxidant compounds and has great potential for therapeutic use.

Key words : *E. globulus*, *M. sylvestris*, antioxidant activity, methanolic extracts, phenolic compounds.

ملخص

في الأونة الأخيرة منحت أهمية كبيرة للنباتات الطبية بسبب خصائصها العلاجية المثبتة في العمل الحالي يتم دراسة المستخلصات الفينولية ل *M. Sylvestris* و *E. globulus* من اجل محتواها المختلف من المركبات الفينولية و النشاط المضاد للأكسدة. النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة كشفت أن *E. globulus* تملك مردود مرتفع ونسبة كبيرة من البوليفينولات الكلية و الفلافونويدات الكلية مقارنة ب *M. sylvestris*. هذه الدراسة اثبتت ان دراسة النشاط المضاد للأكسدة بثلاث طرق : نشاط طرد الجذور الحرة، القدرة الارجاعية للحديد و قدرة تعديل بيروكسيد الهيدروجين كشف مستويات عالية من النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق *E. globulus* مقارنة ب *M. Sylvestris* يمكن استخلاص أن *E. globulus* المدروس هنا يمكن اعتباره كمصدر جيد لمعظم المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة ويملك قدرة كبيرة للاستعمال في العلاج.

الكلمات المفتاحية : *E. globulus* ، *M. sylvestris* ، النشاط المضاد للأكسدة، مستخلصات الميثانول، المركبات الفينولية.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie