

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 de 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 Biologie Moléculaire

Thème

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

Membres de jury :

Présidente : M^{me} ABBES.A.

Examinatrice : M^{me} ABBES. A.

Encadreur : M^{me} BOUTENNOUN Hanane

Présenté par :

AISSOUS Widad .

BOULTIF Faiza

Année Universitaire : 2015-2016

Numéro d'ordre :

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier notre “ Allah ”, notre créateur pour nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

Toute œuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui de près ou de loin ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude.

En nous exprimant de la sorte, nous pensons tout particulièrement à notre Encadreur, “ M^{me} BOUTENNOUN Hanane ”, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail. Nous lui remercions vivement pour sa disponibilité, ses orientations et la lecture de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et pour leurs corrections qui ont permis d'améliorer ce manuscrit.

Nous remercions également tous les membres de laboratoire qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.

Enfin nos plus vifs remerciements vont à nos parents pour leurs soutiens et pour nous avoir toujours encouragés dans ces études en nous offrant toutes les opportunités possibles.

** Merci **

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	01

PARTIE BIBLIOGRAPHIE

Chapitre I : Généralité sur les polyphénols

I.1. Généralités	03
I.2. Répartition et la localisation	03
I.3. Classification des composés phénoliques	04
I.3.1. Les formes les plus simples.....	05
I.3.1.1. Les acides phénoliques.....	05
I.3.1.2. Stilbénes.....	05
I.3.1.3. Coumarine.....	06
I.3.1.4. Les flavonoïdes.....	06
I.3.2. Les fomes condensée.....	09
I.3.2.1. Lignanes.....	09
I.3.2.2. Lignines.....	09
I.3.2.3. Les tanins.....	09
I.4. La biosynthèse des composés phénoliques.....	10
I.4.1. La voie de l'acide shikimique.....	11
I.4.2. La voie acétate –matonate.....	12
I.5. Propriétés biologique des composés phénoliques.....	13
I.5.1. Activité antioxydante.....	13
I.5.1.1. Définition d'un antioxydant.....	13
I.5.1.2. Modes d'action des composés phénoliques.....	14
I.5.2. Interaction composé phénoliques-protéines.....	15
I.5.2.1. Principe de complexation et liaisons intervenantes.....	16
I.5.3. Autres activités de composés phénoliques.....	17

Chapitre II : Les plantes médicinales sélectionnées

II.1. L'espèce <i>Mentha rotundifolia</i>	18
II.1.1. Nom et origine.....	18
II.1.2. Description botanique de la plante.....	18

II.1.3. Distribution.....	18
II.1.4. Systématique.....	19
II.1.5. Données phytochimiques.....	19
II.1.6. Utilisation thérapeutique.....	19
II.2. L'espèce <i>Urtica dioica</i>	20
II.2.1. Nom et origine.....	20
II.2.2. Description botanique de la plante.....	21
II.2.3. Distribution de la plante.....	21
II.2.4. Systématique	21
II.2.5. Données phytochimiques.....	22
II.2.6. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques.....	22

PARTIE PRATIQUE

I. Matériel et méthode

I.1. Matériel végétal.....	24
I.2. Préparation des extraits.....	25
I.2.1. Séchage.....	25
I.2.2. Broyage.....	25
I.2.3. Tamisage.....	25
I.2.4. Extraction des composés phénoliques.....	25
I.2.4.1. Macération.....	25
I.2.4.2. Filtration et décantation.....	26
I.2.4.3. Evaporation.....	26
I.2.5. Détermination du rendement d'extraction.....	27
I.2.6. Dosage des polyphénols.....	27
I.2.7. Dosage des flavonoïdes.....	27

I.2.8. Dosage des tannins.....	28
I.3. Evaluation des activités biologiques des extraits phénoliques des plantes étudiées.....	28
I.3.1.Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits.....	28
I.3.1.1.Le pouvoir antiradicalaire.....	28
I.3.1.2. Le pouvoir réducteur.....	29
I.3.2. Evaluation de l'interaction extraits phénoliques/ protéines.....	29
I.3.2.1. Effet de la concentration des extraits.....	30
I.3.2.2. Effet de la concentration des protéines.....	30
I.3.2.3. Effet de la température.....	30
I.4. Analyse statistique.....	30
II. Résultats	
II.1. Les pourcentages des rendements des extraits phénoliques.....	31
II.2. Teneurs en composés phénoliques des deux extraits.....	31
II.3. Activité antioxydante.....	34
II.3.1.Test au radical DPPH.....	34
II.3.2. Méthode de la réduction du fer.....	36
II.4. Interaction extraits phénoliques-protéines.....	37
II.4.1. Effet de la concentration des extraits.....	37
II.4.2. Effet de la concentration de la protéine.....	38
II.4.3. Effet de la température.....	39
III. Discussion	41
Conclusion.....	46
Références bibliographique.....	48
Les annexes.....	59

Liste des tableaux

Tableau I	: Les principales classes des composés phénoliques.....	03
Tableau II	: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.....	17
Tableau III	: Les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation.....	24
Tableau IV	: Pouvoir antiradicalaire de l'extrait des deux plantes et les standards exprimé en pourcentage.....	34
Tableau V	: Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées.....	37
Tableau VI	: Variation de la densité optique en fonction de la concentration de la protéine.....	38
Tableau VII	: Variation de la densité optique des mélanges extraits phénoliques/Ovalbumine en fonction de la température.....	39

Liste des figures

Figure 1 : Exemple d'acide hydroxybenzoïque(acide galique) et d'acides hydroxycinnamiques (Acide ferulique, acide caffeique).....	05
Figure 2 : Exemple de structure chimique des stilbènes.....	06
Figure 3 : Exemples des structures chimiques des coumarines.....	06
Figure 4 : Structure de base de flavonoïde.....	06
Figure 5 : Deux exemples des structures chimiques des flavones.....	07
Figure 6 : Deux exemples des structures chimiques des flavone.....	07
Figure 7 : Deux exemples des structures chimiques des flavonols.....	07
Figure 8 : Deux exemples des structures chimiques des anthocyanes.....	08
Figure 9 : Structure chimique de chalcon.....	08
Figure 10 : Deux exemples de structure chimique Des isoflavones.....	08
figure 11 : Principaux constituants de la lignine.....	09
Figure 12 : Exemples de structures de tanins hydrolysables.....	10
Figure 13 : Exemple de structure de tanin condensé (1) et d'anthocyane (2).....	10
Figure 14 : Voie de l'acide shikimique.....	12
Figure 16 : E'quilibre entre la formation et l'élimination des espèces oxygénées et azotées hautement réactives, (a) cas normal et (b) en cas de stress oxydatif.....	14
Figure 17 : Piégeage des ERO (X•) par un noyau catéchol.....	14
Figure 18 : Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes	15
Figure 19 :L'espèce <i>Mentha rotundifolia</i> (mentha à feuille ronde).....	18
Figure 20 : L'oxyde de pipériténone (1) et l'oxyde de pipéritone (2).....	19

Figure 21: L'espèce <i>Urtica dioïca</i>	20
Figure 22 : Quercétol, du kaempférol et de leurs glucosides en 3.....	22
Figure 23 : Les situations géographiques des deux stations de récolte.....	24
Figure 24 : Macération sous agitation magnétique.....	26
Figure 25 : La filtration à l'aide du papier Whatman N°3.....	26
Figure 26 : Délipidation et décantation des extraits.....	26
Figure 27: Evaporation des extraits phénoliques.....	26
Figure 28 : Les rendements des extraits méthanoliques des deux plantes en pourcentage.....	31
Figure 29 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.....	32
Figure 30 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.....	32
Figure 31: Courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins.....	32
Figure 32: La teneur en polyphénols des deux plantes.....	33
Figure 33 : La teneur en flavonoïdes des deux plantes.....	33
Figure 34: La teneur en tannins en mgEAT/gEB de l'extrait des deux plantes.....	34
Figure 35: Pouvoir antiradicalaire de l'extrait des deux plantes et les standards exprimé en pourcentage.....	35
Figure 36: Corrélation entre les concentrations des extraits et le pouvoir antiradicalaire.....	35
Figure 37 Pouvoir réducteur de l'extrait des deux plantes et le standard exprimé en pourcentage	36
Figure 38: corrélation entre des extraits des plantes et le pouvoir réducteur.....	36
Figure 39: Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées.....	37

Figure 40: Corrélation entre la concentration des extraits et la formation de complexe protéine composé phénolique	38
Figure 41: Variation de la densité optique en fonction de la concentration de la protéine.....	38
Figure 42: corrélation entre la concentration de protéine et la formation de complexe protéine-composé phénolique	39
Figure 43: Variation de la densité optique des mélanges extraits phénoliques/Ovalbumine en fonction de la température.....	40

Liste des abréviations

acyl-CoA	:	Acyl coenzyme A
ANOVA	:	Analyse de variance
Apo A-1	:	Apolipoprotein A1
ArOH	:	Phénol.
Ar-O•	:	Aryloxyl.
BHA	:	Butylhydroxyanisole
BHT	:	Butylhydroxytoluène
CAT	:	Catalase
Cu	:	Cuivre.
DAHP	:	Le 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate
DO	:	Densité optique
DPPH	:	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EPSP	:	5- énoxyruvylshikimate 3-phosphate
ERO	:	Espèces réactives de l'oxygène.
Fe	:	Fer
GR	:	Glutathion réductase
H ₂ O ₂	:	Peroxyde d'hydrogène.
HDL	:	Lipoprotéines de haute densité
HRPs	:	Protéines riches en histidine
mg EAG/g EB	:	Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait brute.
mg EAT/g EB)	:	Milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait brute
mg EQ/g EB	:	Milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait brute
NOS	:	Nitrique oxyde synthase
NOS	:	Nitrique oxyde synthase.
O ₂ •-	:	Anion superoxyde.
OH•	:	Radical hydroxyl.
OVB	:	Ovalbumine

PEP	:	Phosphoénolpyruvate
PRPs	:	Protéines riches en proline
ROO•	:	Radical peroxy.
ROS	:	Espèces réactives de l'oxygène
RO•	:	Radical oxyl.
SOD	:	Superoxyde dismutase
TBHQ	:	Tertiobutylhydroquinone

Introduction

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (**Eddouks *et al.*, 2007**).

Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (**Bidie *et al.*, 2011**; **Eddouks *et al.*, 2007**).

IL est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à son richesse en produits dits du métabolisme secondaire, celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal. De nombreuses recherches ont montré les propriétés biologiques diverses de ces composés particulièrement des composés phénoliques (**Materska et Perucka, 2005**). La structure chimique de ces substances leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines, et inhiber le processus oxydatif (**Cowan, 1999**).

Au bout des dernières années, les antioxydants commerciaux utilisés étaient des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), le tertibutylhydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG) ; mais ils ont été suspectés de posséder une certaine toxicité et qu'ils étaient responsables de dommages causés dans le foie et de carcinogénèse. De ce fait, l'importance des antioxydants s'est focalisée sur le développement de la recherche et l'isolation des antioxydants naturels à partir des végétaux et cela pour remplacer ceux qui sont synthétiques (**Gharby *et al.*, 2014**). L'étude des activités biologiques des extraits des plantes est donc d'un grand intérêt pour le traitement de diverses maladies et pour la valorisation de la médecine traditionnelle.

Les composés phénoliques, d'un nombre important de métabolites secondaires végétaux sont connus par leur large gamme d'activités biologiques, y compris les propriétés antioxydantes, et interaction polyphénols/protéines (**Gharby *et al.*, 2014**).

Dans cette perspective, deux plantes médicinales de la région de Jijel ont été choisies (*Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca*), pour leur vertu thérapeutiques dans le but d'évaluer *in vitro* leur activité antioxydante et leur capacité à fixer les protéines ; dont l'Ovalbumine a été choisie comme protéine modèle pour étudier cette interaction.

Au cours du présent travail, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à une étude bibliographique, relative aux composés phénoliques, aux plantes étudiées et leurs propriétés biologiques, la deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui porte sur le dosage des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tannins), extraits par le méthanol à partir des deux échantillons, et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques, et de l'interaction extraits phénoliques/Ovalbumine.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les polyphénols

I.1. Généralités

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques, qui dérivent de la biogenèse de l'acide chikimique et/ou l'acétate et qui ne contiennent pas de l'azote (**Macheix, 2005**).

Les composés phénoliques (8000 molécules connues) sont une des principales classes de métabolites secondaires des plantes. Leurs structures et fonctions sont très diverses. Ils possèdent, au minimum, un cycle aromatique portant un à plusieurs groupes hydroxyles. Les acides phénoliques représentent les formes les plus simples et les tanins les formes les plus polymérisées de plus de 30000 Dalton. Les principaux polyphénols présents dans les fruits sont les acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les stilbénoloïdes et les flavonoïdes, dont les tanins condensés (**Mehinagic et al., 2011**). Ces métabolites secondaires jouent un rôle important dans la physiologie de la plante. Ils interviennent dans l'augmentation de la rigidité des parois et la conduction de sève brute à l'intérieure. Ils jouent un rôle dans la formation des pollens et la pigmentation (**Macheix, 2005**).

I.2. Répartition et la localisation

Le niveau d'accumulation des composés phénoliques dans les différents tissus et organes de la plante apparaît toujours comme la résultante entre leur biosynthèse et leur utilisation ou leur dégradation.

A l'échelle tissulaire, la répartition des différents composés phénoliques est très inégale. Les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux en particulier au niveau de l'épiderme des fruits et des feuilles. Certains fruits comme les fraises montrent cependant une accumulation des anthocyanes dans les tissus profonds (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

A l'échelle cellulaire, la répartition des composés phénoliques est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites: d'une part la paroi cellulaire où sont présents les lignines, d'autre part, la vacuole où sont stockés les phénols solubles (anthocyanes, flavonols, tanins ...). Certains flavonoïdes (quercétine, kaempférol) pourraient également être présents au niveau du

noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

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. La bonne connaissance de la répartition des composés phénoliques dans différents tissus et organes végétaux est souvent essentielle pour orienter l'utilisation que l'homme souhaite à faire (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

I.3. Classification des composés phénoliques

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'aujourd'hui chez les végétaux (Tableau I) est par ailleurs, toujours difficile d'utiliser une nomenclature simple et homogène pour les composés phénoliques. La nomenclature chimique précise étant difficile à suivre pour des non spécialistes, mais on peut utiliser des termes d'usage courant dont l'origine se réfère souvent à la plante à partir de laquelle la molécule a été isolée pour la première fois (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Tableau I: Les principales classes des composés phénoliques (**Macheix, 2005**)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchole	
C6-C1	Acide hydroxybenzoïque	p-Hydroxybenzoïque	Epice, fraise
C6-C3	Acide hydroxycinnamique	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
C6-C2-C6	Stilbénes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones • Isoflavonoïdes 	Kaempférole , Cyanidine Catéchine Naringénine Diadzéine	Fruit, légumes , Fleurs Pomme, raisin Citrus Soja,
(C6-C3) ₂	Lignanés	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) _n	Liginines		Bois
(C15) _n	Tannins		Raisin rouge

I.3.1. Les formes les plus simples

I.3.1.1. Les acides phénoliques

Les formes les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 aux flavonoïdes C15. Elles sont présentes sous forme soluble dans la vacuole. On distingue deux principales classes d'acides phénoliques; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. (Macheix, 2005).

A. Les dérivés de l'acide benzoïque

Ces dérivés ont une formule de base de type C6-C1 (Figure 1). Ils sont particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal, en particulier de lignines et de certains tannins (Macheix, 2005).

B. Les dérivés de l'acide cinnamique

C'est une classe très importante dont la structure de base est C6-C3 (Figure 1). Le degré de hydroxylation de cycle benzoïque et son modification par des réactions secondaires sont un élément important de la réactivité chimique de ces molécules. Ces acides sont rarement présents à l'état libre. Ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques. Les liaisons impliquent souvent la fonction carboxylique conduisant alors à des esters (avec le glucose ou avec les différents alcools-acides) ou à des phénolamides (avec des mono ou des diamines: tyramine, putrescine, spermidine...) (Macheix, 2005).

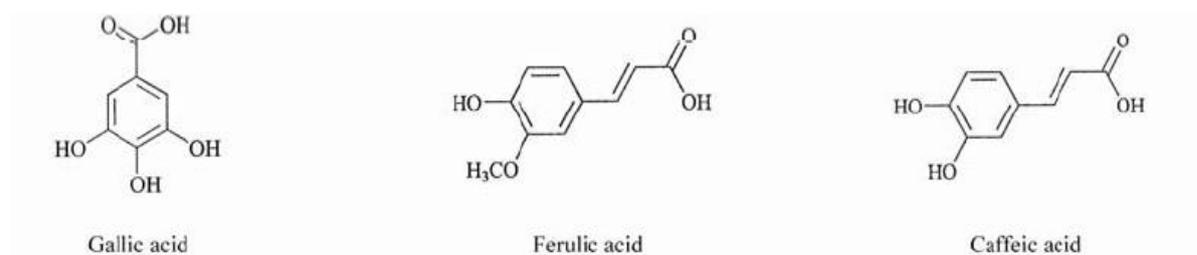


Figure 1: Exemple d'acide hydroxybenzoïque (acide gallique) et d'acides hydroxycinnamiques (Dai et al., 2010)

I.3.1.2. Les stilbènes

Ces composés phénoliques possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène (Figure 2). Généralement, ils peuvent être libres ou hétérosidiques, et parfois polymériques. Ils sont présents dans de nombreuses familles des végétaux supérieurs (Bruneton, 1993).

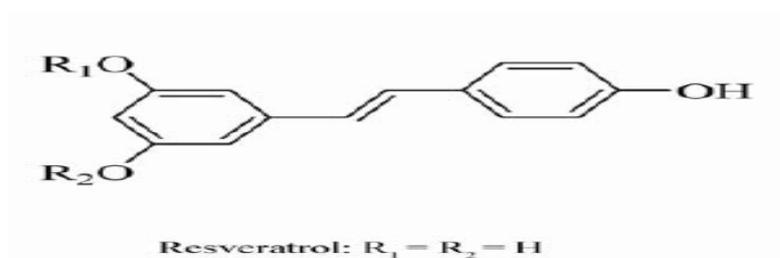


Figure 2 : Exemple de structure chimique des stilbènes (Dai et al., 2010)

I.3.1.3. Les coumarines

Elles tirent leur nom de “ coumarou ”, nom vernaculaire de la fève tonka, d’où fut isolées, en 1820. Les coumarines (Figure 3) sont des 2H-benzoyopyran-2-ones que l’on peut considérer-en première approximation comme étant les lactones des acides o-hydroxy-Z-cinnamique. Toutes les coumarines sont substituées par un hydroxyle (Bruneton, 1993).

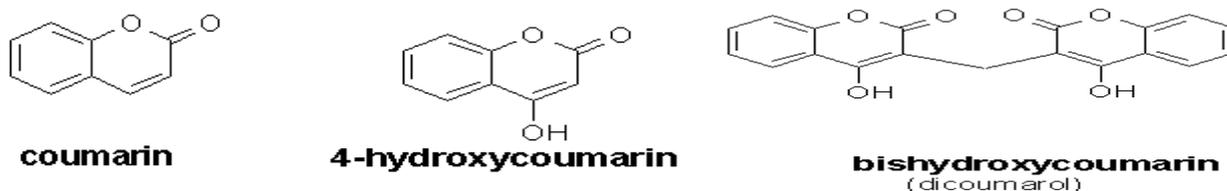


Figure 3: Exemples des structures chimiques des coumarines (Jain et Joshi, 2012)

I.3.1.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle (Ghedira, 2005). Tous les flavonoïdes contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure basique (Figure 4) : deux cycles aromatiques à six atomes de carbones liés avec une unité de trois carbones C6-C3-C6: qui peut ou non être une partie d’un troisième cycle C (Tapas et al., 2008).

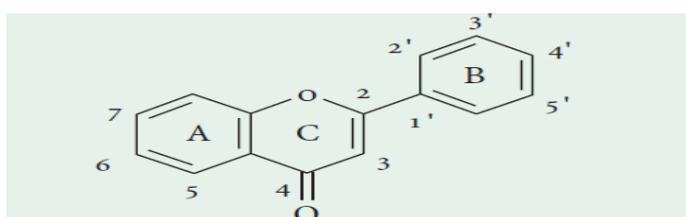


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005)

Les flavonoïdes sont classés selon le nombre, la position et la nature des substitutions (hydroxylation, méthyoxylation, glycosylation et autre) sur les deux cycles aromatiques A et B (Heim *et al.*, 2002). On distingue :

A. Les flavones

Les flavones (Figure 5) sont des composés libres qui entrent dans la composition des substances farineuses produites par la primevère farineuse (*Primula farinosa*) (Richter, 1993).

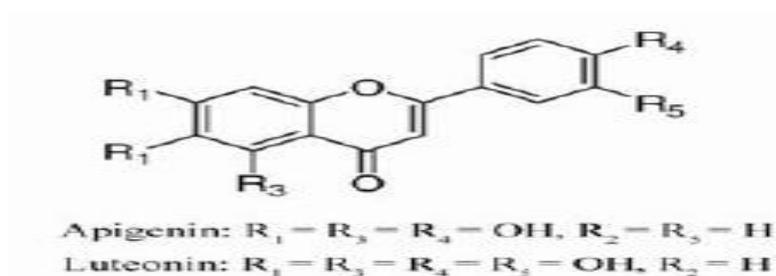


Figure 5 : Deux exemples des structures chimiques des flavones (Dai *et al.*, 2010)

B. Les flavonones

Les composés de ce groupe (Figure 6) ont une double liaison de moins que les flavones dans leur hétérocycle (Richter, 1993).

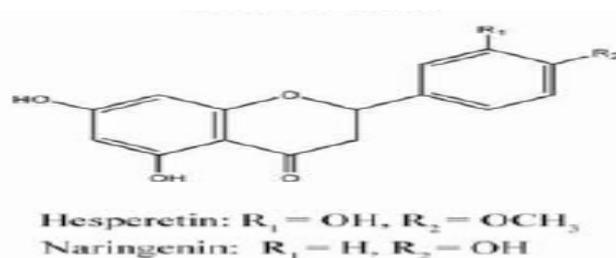


Figure 6 : Deux exemples des structures chimiques des flavonones (Dai *et al.*, 2010)

C. Les flavonols

Ce sont des dérivés des flavones par l'addition d'un nouveau groupe hydroxyle en position 3 (Figure 7) (Richter, 1993).

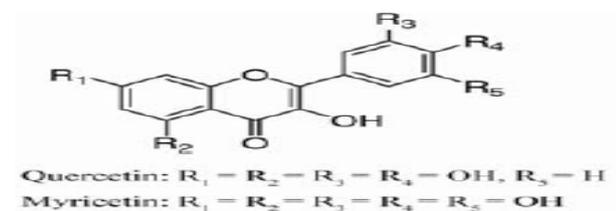


Figure 7: Deux exemples des structures chimiques des flavonols. (Dai *et al.*, 2010)

D. Les anthocyanidines

Ce sont des pigments vacuolaires rouges ou bleus de tous les végétaux (Figure 8) (Richter, 1993). Ils sont responsables des couleurs rouges, violettes et bleues dans les fruits, les légumes, les

fleurs et les graines. Ils jouent aussi un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes et dans la dispersion des graines (Tsao, 2010).

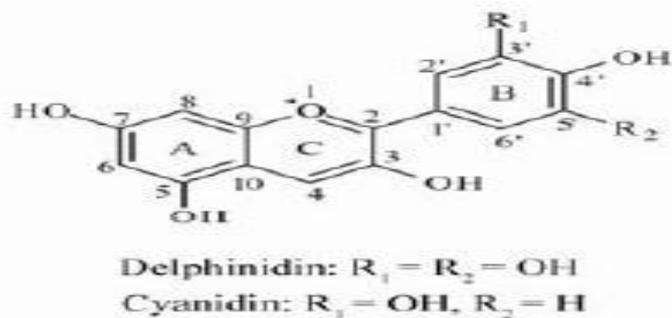


Figure 8: Deux exemples des structures chimiques des anthocyanes (Dai et al., 2010)

E. Les chalcones (aurones)

Les chalcones, dépourvues de l'hétérocycle central, sont caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné cétonique. Si les substitutions sur le cycle A sont les plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes, le cycle B est assez fréquemment non substitué (Figure 9). Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidénecoumaranon (Bruneton, 1993).

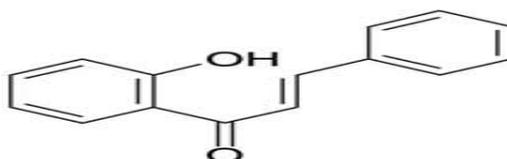


Figure 9 : Structure chimique de chalcon (De Rijke et al., 2006)

F. Isoflavones

Trouvés dans le soja, ont une activité antioxydante nettement plus faible que celle de la quercétine. Plus de 90% des isoflavones sont sous forme glycosylée, mais ce sont les formes aglycones qui ont l'activité antioxydante la plus forte (Figure 10) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

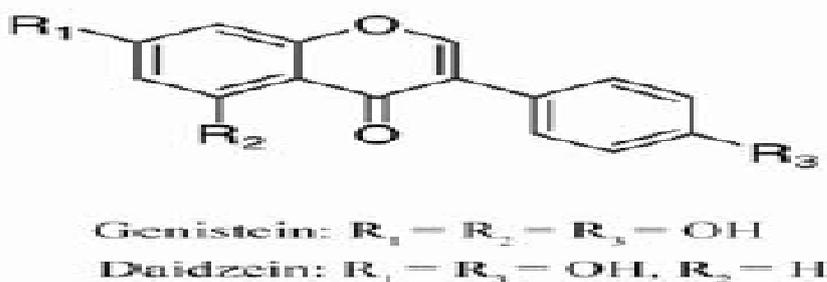


Figure10 : Deux exemples de structure chimique des isoflavones (Dai et al., 2010)

I.3.2. Les formes condensée

I.3.2.1. Les lignanes

La famille de lignanes est un grand groupe des molécules naturellement abondantes qui peuvent être trouvés dans les pléthores des plantes. Les lignanes ont été définies en 1936 comme dimères des phénylpropanoïdes où deux unités de phénylpropane C6-C3 sont liées par leur carbone 8. (Sainvitu *et al.*, 2012).

I.3.2.2. Les lignines

En se déposant au niveau des parois cellulaires secondaires leur confèrent une haute résistance à la traction et à la pression grâce à leur propre élasticité du point de vue chimique, les lignines sont des mélanges de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux : les alcool hydroxycinnamilique (*p*-coumarique), coniférylique et sinapylique (Figure 11) (Richter, 1993).

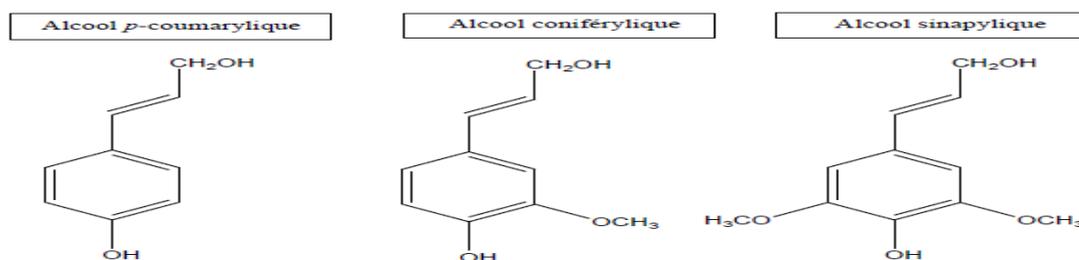


Figure 11 : Principaux constituants de la lignine (Sainvitu *et al.*, 2012)

I.3.2.3. Les tanins

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau. Ils sont aptes à la préparation du cuir et donnent les réactions classiques des phénols. En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et des autres protéines. Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en deux groupes:

A. Les tanins hydrolysables

Constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifié de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide éllagique, acide m-digallique) d'où le nom de pyrogalliques et d'éllagitanins qu'on leur donne quelquefois (Figure 12). Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique. Les tanins galliques et ellagiques sont caractéristiques des angiospermes dicotylédones (Sereme *et al.*, 2010).

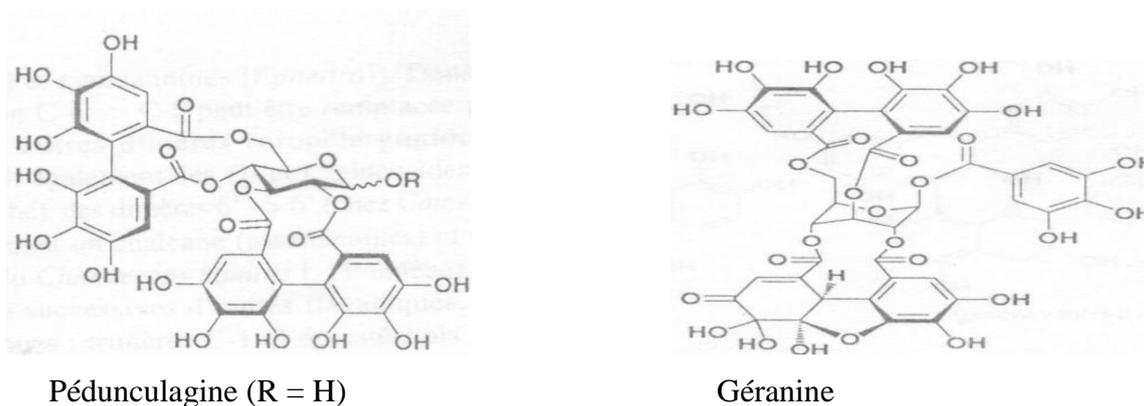


Figure 12: Exemples de structures de tanins hydrolysables (Sereme *et al.*, 2010)

B. Les tanins condensés ou proanthocyanidols

Résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4) (Figure 13). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques ». Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, Gymnospermes et fougères compris (Sereme *et al.*, 2010).

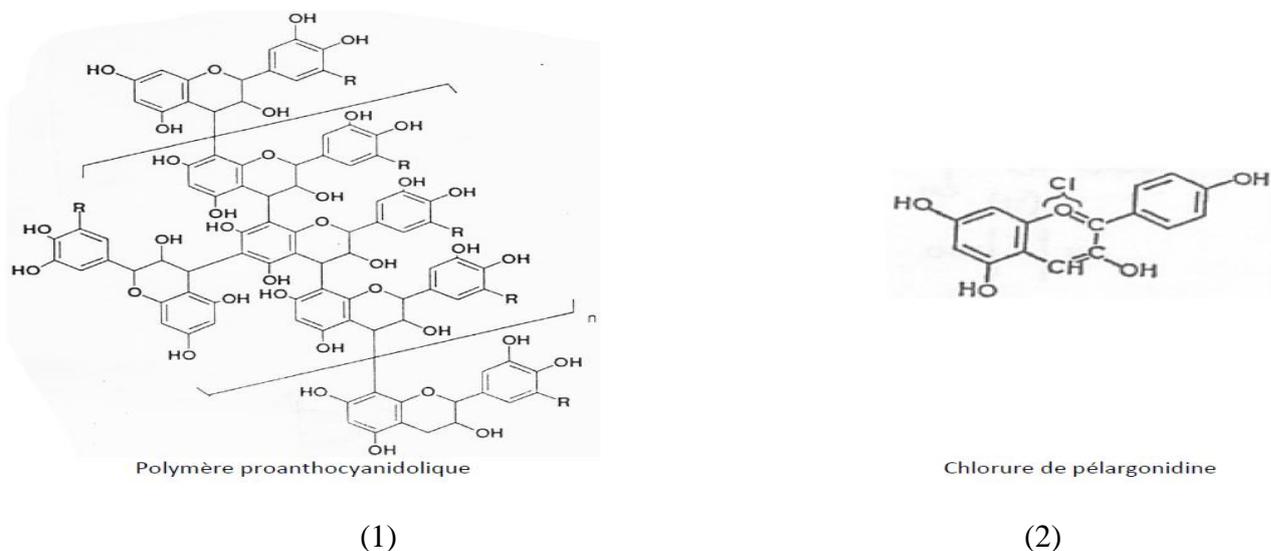


Figure 13: Exemple de structure de tanin condensé (1) et d'anthocyane (2) (Sereme *et al.*, 2010)

I.4. La biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate.

I.4.1. La voie de l'acide shikimique

C'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. Ces derniers sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, et les alcaloïdes. La plupart de ces métabolites ayant des propriétés antioxydantes (**Bruneton, 1993**).

La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C7, le 3-deoxy-D-*arabino*-heptulosonate 7-phosphate (DAHP). Cette réaction est catalysée par l'enzyme DAHP synthase. La cyclisation du DAHP en 3-déhydroquinone par l'enzyme 3-déhydroquinone synthase est une réaction complexe qui met en jeu une condensation aldolique intramoléculaire intervenant après l'élimination de phosphate.

La déshydrogénation du 3-déhydroquinone est catalysée par une enzyme 3-déhydroquinase qui, en formant transitoirement une base de Schiff entre un résidu lysine et le carbonyle du 3-déhydroquinone induit une élimination d'eau (**Bruneton, 1993**).

C'est après la réduction du 3-déhydroshikimate par l'enzyme shikimate oxydoréductase et la phosphorylation du shikimate par l'enzyme shikimate kinase que se produit la condensation avec une nouvelle molécule de phosphoénolpyruvate (PEP) par l'enzyme 5-énopyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP) synthase pour former un éther d'énol le 5-énopyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit, via une trans 1,4 – élimination inhabituelle, au chorismate. Cette réaction est catalysée par l'enzyme chorismate synthase (**Bruneton, 1993**).

L'acide chorismique occupe une position clé dans la biosynthèse des acides aminés aromatiques: le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine. Le réarrangement de l'acide chorismique en acide préphénique est catalysée par l'enzyme chorismate mutase. L'amination réductrice de l'acide préphénique conduit à l'acide arogénique catalysée par le préphénate aminotransférase ensuite la décarboxylation et l'aromatization par l'enzyme arogénate déshydratase convertit l'acide arogénique en phénylalanine, tandis que l'enzyme arogénate déshydrogénase génère la tyrosine (Figure 14) (**Bruneton, 1993**).

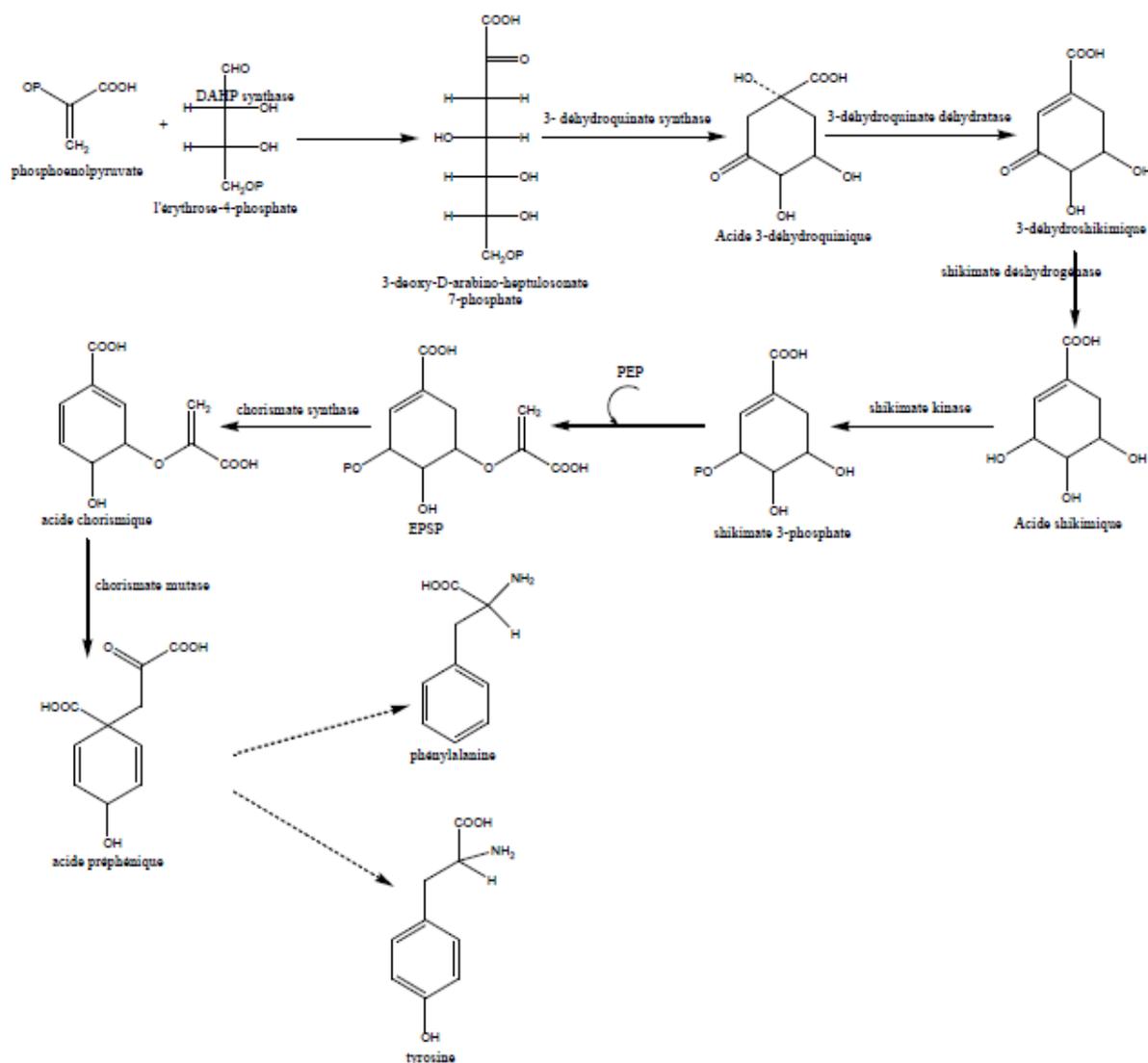


Figure 14: La voie de l'acide shikimique (Boubekri, 2004)

L'élimination d'ammoniac à partir de la phénylalanine conduit à l'acide (E) – cinnamique (trans- cinnamique) (Bruneton, 1993). Ce dernier est le précurseur immédiat des phénols. La séquence biosynthétique qui suite dénommée séquence phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques

En fait, les formes métaboliquement actives des acides hydroxycinnamiques sont leurs esters avec le coenzyme A qui permettent alors d'accéder aux principales classes de composés phénoliques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

I.4.2. La voie acétate –malonate

Cette voie de biosynthèse consiste à former des noyaux aromatique par la condensation des unités acétate pour la formation de l'acide polycétonique, qui s'effectue leur cyclisation à travers la

voie de synthèse des acides gras qui allonger le complexe acyl-CoA par des unités en C2 fournit par décarboxylation de malonyl-CoA. Le cycle A de la structure flavane est construit sur ce principe, il est ensuite complété à l'aide de dérivés de l'acide cinnamique, par un hétérocycle central, puis par un second cycle aromatique (cycle B) (**Richter, 1993**).

Ainsi les deux voies responsables de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent, formant un nœud important dans le réseau du métabolisme secondaire des plantes supérieures (**Richter, 1993**).

I.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques

I.5.1. Activité antioxydante

Les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants de différentes manières. Dans les systèmes utilisant l'oxydation des métaux de transition tels que le cuivre et le fer, ils peuvent chélater ces ions métalliques, qui sont des initiateurs des réactions de fenton pouvant générer de fortes concentrations de radical hydroxyle (**Naimi et al., 2015**).

Toute fois, l'activité antioxydante la plus importante est liée à la capacité antiradicalaire, en brisant la chaîne des réactions déclenchées par les radicaux libres. La propriété antioxydante des polyphénols est associée à leur capacité à former des liaisons hydrogène intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoxylique. Des études similaires sur les flavonoïdes ont déjà montré que le degré de l'activité antioxydante est corrélée au nombre de groupes hydroxyles. Le nombre de groupes hydroxyles et leurs positions sur le cycle aromatique sont déterminants pour l'activité des flavonoïdes et des polyphénols (**Nijveldt et al., 2001; Naimi et al., 2015; Benlemlih et Ghanam, 2012**).

1.5.1.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à ceux d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou empêche l'oxydation de ce substrat (Figure16) (**Ladoh Yemeda et al., 1997; Benlemlih et Ghanam, 2012**).

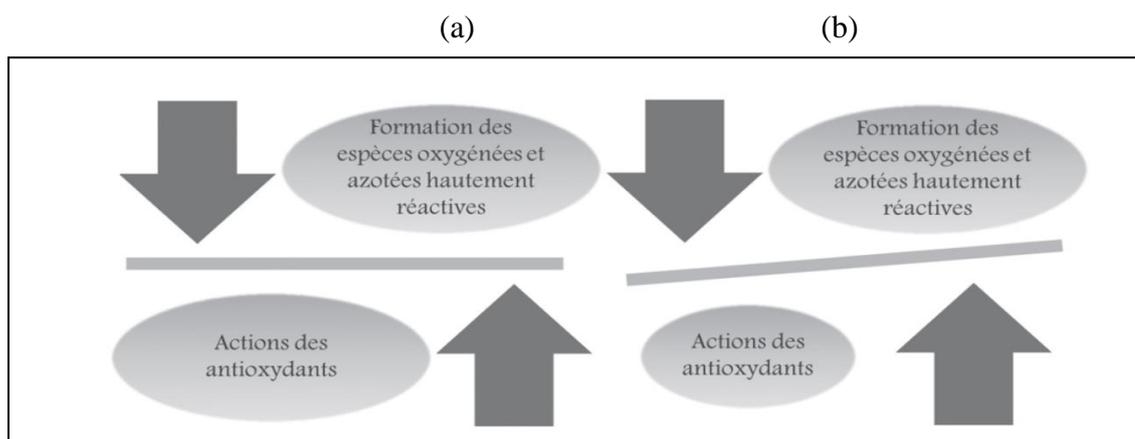


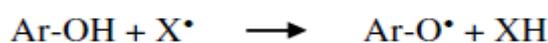
Figure 16. Équilibre entre la formation et l'élimination des espèces oxygénées et azotées hautement réactives, (a) cas normal et (b) en cas de stress oxydatif (**Benlemlih et Ghanam, 2012**)

I.5.1.2. Modes d'action des composés phénoliques

Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes: le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO, la chélation des ions de métaux de transitions responsables de la production des ERO et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (**Heim et al., 2002**).

A. Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. A cause de leur faible potentiel redox, les polyphénols (Ar-OH) sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, les peroxydes (ROO•), les alkoxydes (RO•) et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène (**Popovici et al., 2009; Benlemlih et Ghanam, 2012**)



Où

X^{\bullet} : Représente l'une des ERO mentionnées ci-dessus ;

Ar-O^{\bullet} : radical aryloxyde qui, s'il s'agit d'un noyau catéchol, peut réagir avec un autre radical pour former une *o*-quinone plus stable (**Figure 17**).

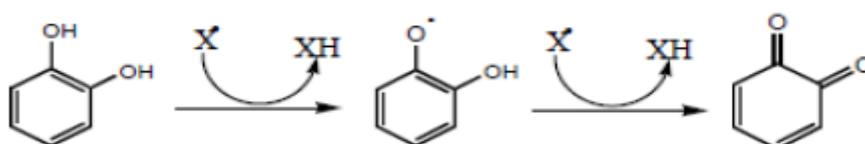
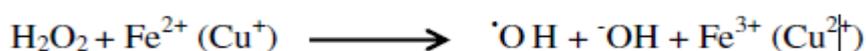


Figure 17 : Piégeage des ERO (X^{\bullet}) par un noyau catéchol (**Fiorucci et al., 2007**)

En outre, le radical aryloxy peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet prooxydant indésirable des flavonoïdes. Ainsi, la capacité antioxydante des polyphénols dépend non seulement du potentiel redox du couple $\text{Ar-O}\cdot/\text{Ar OH}$ mais aussi de la réactivité du radical $\text{Ar-O}\cdot$ (Fiorucci *et al.*, 2007).

B. Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (Fe^{2+} pour la catalase et Cu^+ pour la superoxyde dismutase). Cependant, ils peuvent aussi être responsables de la production du radical $\text{OH}\cdot$ par la réduction de H_2O_2 lors de la réaction de Fenton.



En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de $\text{O}_2\cdot^-$ et de H_2O_2 . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. Les polyphénols abondants dans l'alimentation, notamment les flavonoïdes, séquestrent ces ions métalliques au niveau de différents sites (Figure 18) (Delattre *et al.*, 2003; Dai et Mumper, 2010).

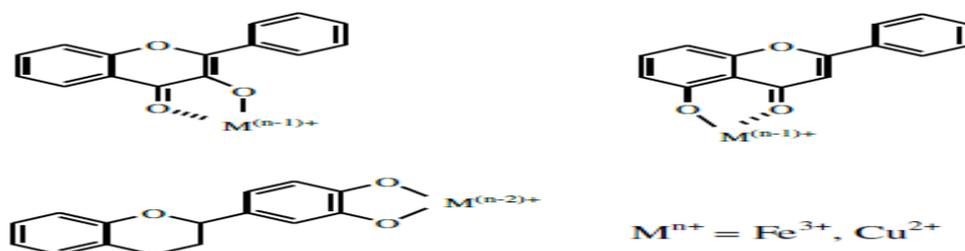


Figure 18 : Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (Dai et Mumper, 2010)

C. Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes sont responsables de l'inhibition de très nombreuses enzymes, qui sont impliquées directement dans le stress oxydatif cellulaire, exemple de la glutathione S-transférase, les lipoxygénases, la xanthine oxydase, et les nitrique oxyde synthésases (NOS). Les modes d'inhibition peuvent être différents selon le flavonoïde et l'enzyme étudiés (Macheix *et al.*, 2005; Ghedira, 2005).

.5.2. Interaction composé phénoliques-protéines

Le noyau phénolique est une unité structurale très favorable à l'interaction avec les protéines (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées

au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales) (**Bruneton, 1993**).

Les tannins sont aussi considérés comme étant des protecteurs des végétaux contre les herbivores (**Macheix et al., 2005; Barbehenn et al., 2007**) et les attaques microbiennes (**Mahboubi et Kazempour, 2011**). Ce rôle est attribué à leur propriété astringente et à leur capacité de précipiter les protéines et d'inhiber les enzymes gastro-intestinales (**Hagerman et Butler, 1981; Barbehenn et al., 2007**).

Cependant, d'autres recherches ont montré que les protéines salivaires (PRPs) et (HRPs) réagissent fortement avec les tannins (sensation d'astringence), ce qui peut protéger les protéines diététiques et digestives d'interagir avec les tannins et permettre la biodisponibilité des aliments et leur absorption au niveau de l'intestin (**Dinnella et al., 2009; Macheix et al., 2005; McRae et Kennedy, 2011; Hagerman et Butler, 1981; Bennick, 2002**).

Des études sur des animaux ont montré que certain nombre d'effets biologiques néfastes des tanins sur les animaux. Les tannins dans l'alimentation des animaux d'expérience conduisent à la diminution de la croissance de la prise de poids, et à la diminution de l'absorption du calcium, ce qui peut affecter le métabolisme de l'os. Les tannins peuvent aussi perturber l'absorption du Fer, cet effet peut être lié à la présence des groupes galloyls (**Yan et Bennick, 1995; Bennick, 2002; Aguilar-Zárate et al., 2014**).

Les études de biodisponibilité ont mis en évidence la présence dans le plasma sanguin de faibles concentrations de formes conjuguées de polyphénols d'alimentation. Dans le cas des flavonols, ces formes circulantes sont liés à la sérum albumine alors que dans le cas de la catéchine, une interaction avec la partie protéiques (Apo A-1) des lipoprotéines de haute densité (HDL) semble plus probable. Ces interactions pourraient moduler la biodisponibilité des polyphénols.

L'action pharmacologique des composés phénoliques, particulièrement les tannins, est associée à leur capacité à se lier aux protéines, ce qui peut conduire à l'inhibition d'activités enzymatiques (galactosidases, peroxydases, lipoxigénase, glucosidases) qui interviennent dans la production des radicaux libres (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006; Bruneton, 1993; Macheix et al., 2005**).

I.5.2.1. Principe de complexation et liaisons intervenantes

Le mécanisme de complexation semble être un phénomène de surface (**Bruneton, 1993**). La précipitation s'effectue en deux temps : protéine et polyphénols (tannins) s'associent d'abord pour former des complexes solubles qui peuvent ensuite s'agréger et précipiter. Deux situations sont envisageables : si la concentration des protéines est faible, les tannins se fixent en formant une

monocouche autour de chaque molécule, si la concentration élevée, les tannins peuvent se fixer sur plusieurs protéines à la fois en forme un réseau.

Les principaux mécanismes d'action entre les tannins et les protéines sont au nombre de trois. Les liaisons tannins-protéines débutent par des interactions hydrophobes entre les deux molécules, rapidement complétées par un réseau de liaison hydrogène et par des liaisons ioniques. Le complexe ainsi formé précipite lorsqu'il est suffisamment hydrophobe (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

- Liaison hydrogènes entre les groupements phénols des tannins et différents groupes récepteurs (-NH-, -CO-, -OH) des protéines ou d'autres polymères;
- Liaisons ioniques entre des groupements anioniques, constitués par certains cycles benzoïques des tannins, et des groupes cationiques des protéines;
- Interaction hydrophobes, provenant entre le groupement latéral (pyrrolidine) de la proline et les cycles aromatiques des polyphénols (**Bruneton, 1993; Macheix et al., 2005**).

I.5.3. Autres activités de composés phénoliques

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la santé humaine en raison de leurs activités pharmacologiques diverses (**Tableau II**) comme anti-inflammatoires, anti allergiques, antimicrobiens, antivirales, anticancéreux, cardioprotectives et vasodilatatoires (**Ladoh Yemeda et al., 1997**). Ils participent à la lutte contre le vieillissement cutané en tant que molécules anti radicalaires (**Macheix et al., 2005**).

Tableau II: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme (**Macheix et al., 2005; Bruneton, 1993; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**)

Polyphénols	Activités biologiques
Flavonoïdes	Anti tumorale, anti parasitaires, vasodilatatoires, antibactériennes, anticarcinogènes, anti inflammatoires, antivirale Antioxydante anti allergiques,
Lignanes	Anti inflammatoires,
Tannins	Antioxydante
Coumarines	Anti inflammatoires, protectrice vasculaires anti inflammatoires, anti parasitaires
Phénols simples	Effet stabilisantes sur le collagène, antioxydante, anti tumorales, antifongiques et anti inflammatoires

*Chapitre II : Les plantes
médicinales sélectionnées*

II.1. L'espèce *Mentha rotundifolia*

II.1.1. Le nom et l'origine

Mentha rotundifolia, dont le nom vernaculaire est « *timarssat* » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* (Brada et al., 2007) alors que pour d'autres auteurs *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce (Božović et al., 2015).

II.1.2. Description botanique de la plante

Mentha rotundifolia est une espèce de plantes aromatiques, très répandue dans la nature. C'est une plante herbacée, vivace atteignant 60 cm de hauteur (Brada et al., 2007). Ses feuilles sont duveteuses argentées rappelant la forme de celles du pommier. Ses fleurs sont petites avec une couleur, blanche ou rose, regroupées en épi terminal continu formé de glomérules dense très rapproché (Figure 19) (Sell et al., 2002).



Figure 19 : *Mentha rotundifolia*

II.1.3. Distribution

Cette espèce est principalement distribuée dans les zones humides et près des cours d'eau en basse et moyenne montagne (El Arch et al., 2003) et les zones tempérées septentrionales (Europe, Afrique du Nord, Asie occidentale et Amérique du nord) (Sell et al., 2002).

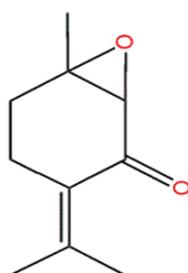
II.1.4. Systématique

La systématique *Mentha rotundifolia* est la suivante (Skaria et al., 2007)

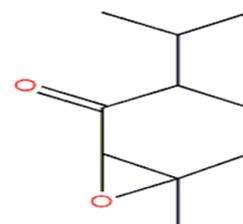
Règne	:	Plantae
Division	:	Embryophyta
Subdivision	:	Angiosperme
Classe	:	Dicotyledonae
Famille	:	Lamiaceae
Genre	:	<i>Mentha</i>
Espèce	:	<i>Mentha rotundifolia</i>

II.1.5. Données phytochimiques

Les études concernant la composition chimique de *Mentha rotundifolia* montrent l'existence vraisemblable de deux chémotype l'un est l'oxyde de pipéritone (Figure 20.1), et le second le pipériténone (Figure 20.2), Ce chémotype très particulier est rapportée pour la première fois chez l'espèce *Mentha rotundifolia* (Brada et al., 2007).



(1)



(2)

Figure 20 : L'oxyde de pipériténone (1) et l'oxyde de pipéritone (2) (Božović et al., 2015).

II.1.6. Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques

Mentha rotundifolia est très utilisée en médecine traditionnelle. Le décocté des feuilles, associées à la marjolaine (*Origanum majorana*), à la menthe verte (*Mentha viridis*) et au fenouil (*Foeniculum vulgare*), ensuite mélangé avec une cuillère de miel, est très apprécié dans le traitement des maux de gorge (El Azzouzi et Zidane, 2015) et contre les ballonnements et la fièvre, ainsi que comme antiseptique (Kothe et Hans, 2007).

Ses feuilles sont aussi utilisé pour le traitement des douleurs gastriques, des diarrhées, des refroidissements et des affections respiratoires. Cette espèce est utilisée pour soulager les douleurs dentaires et contre les affections gastriques et pulmonaires (**Lieutaghi, 1996**).

La présence de proxyde de pipériténone (monoterpène oxygéné) a des effets biologiques très intéressants : il présente des effets cardiovasculaires (activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), une activité sur les centres nerveux sympathiques (relaxant, stimulant, dépressant), des propriétés antibactériennes et antifongiques, et agit aussi comme agent retardant la reproduction du vecteur de malaria *Anopheles stephensis* (**Brada et al., 2007**).

I.2. L'espèces *Urtica dioïca*

I.2.1. Nom et origine

La grande ortie (*Urtica dioïca*) est encore appelée ortie dioïque ou ortie commune, aussi Azegtouf (nom berbère). Le terme *Urtica* tire son nom du latin *uro* ou *urere* qui signifie « je brûle », allusion à ses poils urticants dont le contact est très irritant. Le terme *dioïca* vient de dioïque, ce qui signifie que les fleurs mâles et les fleurs femelles se trouvent sur des pieds séparés (**Delille, 2007; Beloued, 2005; Kothe et Hans, 2007**).

Cette espèce est présente dans presque toutes les régions du monde: l'Europe, l'Afrique du Nord, L'Asie ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud et aussi en Afrique., L'Ortie est une plante inféodée au voisinage des habitations et les décombres et lieux incultes. On la rencontre dans les haies, au bord ses chemins, dans les champs et les jardins (**Delille, 2007; Beloued, 2005**).



Figure 21: L'espèce *Urtica dioïca* (Daoudi et al., 2015)

1.2.2. Description botanique de la plante

Urtica dioïca est une plante herbacée, vivace, d'un vert sombre, à tiges robustes dressées quadrangulaire, rameuses et très fibreuses de 50 à 120 cm (Delille, 2007; Beloued, 2005). Les feuilles sont opposées, de couleur vert foncée, à dents pointues, plus longues que larges à dents triangulaires. Elles sont portées par un pétiole égalant la moitié du limbe, à deux stipules linéaires-lancéolées; de 4 à 12mm de long. Les fleurs de cette plante sont dioïques, parfois monoïques, en grappes rameuses bien plus longue que le pétiole. Les fructifères sont pendantes, périanthes pubescentes. Elles possèdent des graines ovées de 1 à 2 mm de long sur 0,75 mm de large, obtus brun olive, très finement ponctuée (Figure 21) (Delille, 2007; Beloued, 2005).

1.2.3. Distribution de la plante.

L'ortie est une plante cosmopolite que l'on trouve dans les régions tempérées humifères et légères du monde entier (Asgarpanah et Mohajerani, 2012). Elle est distribuée dans le Nord, et le Nord-Ouest. C'est une plante rudérale ce qui signifie qu'elle apprécie les endroits pollués qu'elle se charge d'assainir. En tant que plante nitrophile, elle suit la culture humaine et pousse particulièrement bien sur les sols contaminés par les engrais et les excréments des hommes ou des animaux. On la trouve plus rarement dans les régions de nature vierge. Elles ne se développent pas en atmosphère marine (Taylor, 2009).

On Algérie l'ortie est repartie dans les ravins frais des montagnes bien arrosés. Aussi on trouve dans les stations riches en nitrate : Djurdjura, Atlas Blida, Miliana...etc. La floraison de cette espèce étendus à partir du mois d'Avril jusqu'à Septembre (Beloued, 2005).

1.2.4. Systématique

La systématique d'*Urtica dioïca* est la suivante (Beloued, 2005; Asgarpanah et Mohajerani, 2012).

Règne	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Classe	:	Magnoliopsida
Sous classe	:	Rosidaeae dialycarpellées
Ordre	:	Urticales
Famille	:	<i>Urticaceae</i>
Genre	:	<i>Urtica</i>
Espèce	:	<i>Urtica dioïca</i> .

1.2.5. Données phytochimiques

Des études effectuées sur *Urtica dioïca* ont démontré que celle-ci est riche en flavonoïdes sous forme de 3-glucosides et 3-rutinosides. Elle contient du quercétol, du kaempférol (Figure 22) et de l'isorhamnétol. Cette plante renferme plus de 20% d'éléments minéraux constitués de calcium, de potassium et de l'acide silicate partiellement soluble (1 à 4%) et renferme aussi de l'acide caféique et ses esters, de l'acide caffeoyl-malique (1,6%) de l'acide chlorogénique, scopolétol et sistostérol, de 3-hydroxy- α -ionol, des glycoprotéines, des lipides, des sucres, des acides aminés libres, des traces de nicotine. De faibles quantités d'acétylcholine, d'histamine, de sérotonine (5-hydroxytryptamine) et d'acide formique sont aussi présentes dans les poils urticants. La présence de leucotriènes est controversée. Le taux de chlorophylle ne semble pas plus élevé que celui des feuilles d'autres drogues (environ 2,7 %). La présence de «glucokinines», prétendues responsables de l'activité «antidiabétique», n'a jamais été démontrée (Bruneton, 2009; Crémer et al., 2010).

Les feuilles d'*Urtica dioïca* referment aussi des tanins, des glucoquinines, et les vitamines A et C en trace (Beloued, 2005; Hajhashemi et Klooshani, 2013). On note aussi la présence de stérols: sitostérol libre et 3-O-glucosylé, 7 β -hydroxysitostérols et leur glucosides, et palmitate du 3-O-glucosyl sitostérol (Bruneton, 2009).

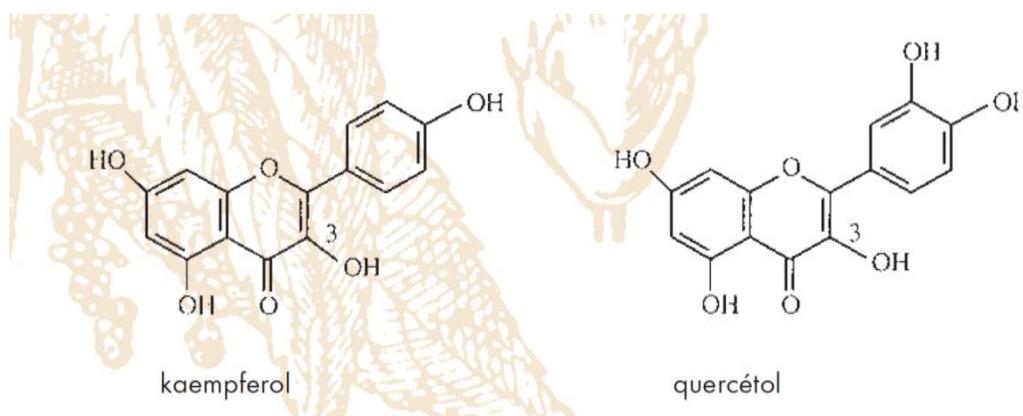


Figure 22 : Quercétol, du kaempférol et de leurs glucosides en 3 (Bruneton, 2009).

1.2.6 Utilisation thérapeutique et propriétés pharmacologiques

L'utilisation de l'ortie est multiple. On l'emploie en agriculture, en alimentation, en cosmétique, en teinturerie, dans l'industrie du textile et à des fins médicinales (Asgarpanah et Mohajerani, 2012).

Plusieurs propriétés médicinales lui sont attribuées : adaptogène, nutritive, astringente, tonique, antiasthmatique, stimulante et dépurative. Les feuilles d'ortie sont riches en fer et en oligo-éléments. On la conseille en usage interne, soit en infusion, en teinture, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie, contre l'inflammation des voies urinaires, en traitement ou en prévention des calculs rénaux, contre l'anémie, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foins. L'ortie est aussi utilisée par voie externe pour traiter les entorses, la tendinite et la névralgie, ainsi que pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales. On la retrouve dans certains produits pour traiter les maladies de peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné et les infections. L'ortie seule ou en association avec d'autres plantes entre dans la composition de plusieurs produits pharmaceutiques. Par ailleurs, depuis le début des années 1980, la racine d'ortie est utilisée pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate (**Delille, 2007; Beloued, 2005**).

L'ortie est également utilisée dans plusieurs cosmétiques comme les shampoings, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux. En cuisine, les jeunes feuilles sont excellentes cuites, en potage, en salade ou comme légume. Elles perdent d'ailleurs leur propriété urticante lorsqu'elles sont cuites, séchées ou transformées. Auparavant, l'ortie était utilisée comme colorant naturel vert en raison de sa haute teneur en chlorophylle et ses fibres servaient à la fabrication de papier. Pendant quelque deux mille ans, l'ortie a été exploitée en Norvège et en cosse pour ses fibres qui servaient au tissage de vêtements (**Delille, 2007; Beloued, 2005**).

Au jardin, l'ortie est considérée comme une plante essentielle. On l'utilise en purin comme tonique universel, en pulvérisation foliaire sur les plantes. Le purin d'ortie a aussi l'avantage de renforcer les défenses naturelles des plantes et d'avoir un certain effet répulsif sur les insectes et les maladies. Ajoutée au compost sous forme de préparât, l'ortie a pour effet d'aider le processus de décomposition. Plantée près de l'angélique, de la valériane, de la sauge ou de la menthe, l'ortie aurait le pouvoir d'augmenter leur contenu en huiles essentielles et en principes actifs (**Asgarpanah et Mohajerani, 2012; Delille, 2007; Beloued, 2005**).

Un certain nombre de constituants chimiques tels que les flavonoïdes, les tanins et les stérols ont été isolés à partir de différentes parties de la plante. D'après les études pharmaceutiques actuelles, des applications pharmaceutiques supplémentaires de *U. dioica* ont été révélés elle a un pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, antiulcéreux, antiviraux, anticancéreuse, antibactérien (**Asgarpanah et Mohajerani, 2012; Bruneton, 2009**).

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthode

I.1. Matériel végétal

Deux plantes médicinales à savoir *Urtica dioïca* et *Mentha rotundifolia* 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 23), en deuxième semaine d'avril pour *Urtica dioïca* dans la région de Taher, et la première semaine de septembre pour *Mentha rotundifolia* dans la région de Jijel (Tableau III).

Tableau III: les espèces végétales utilisées dans l'expérimentation.

Nom botanique	Famille	Région de récolte	Période de récolte
<i>Urtica dioïca</i>	<i>Urticaceae</i>	Taher	La deuxième semaine d'avril 2016
<i>Mentha rotundifolia</i>	<i>Lamiaceae</i>	Jijel	La première semaine de septembre 2015

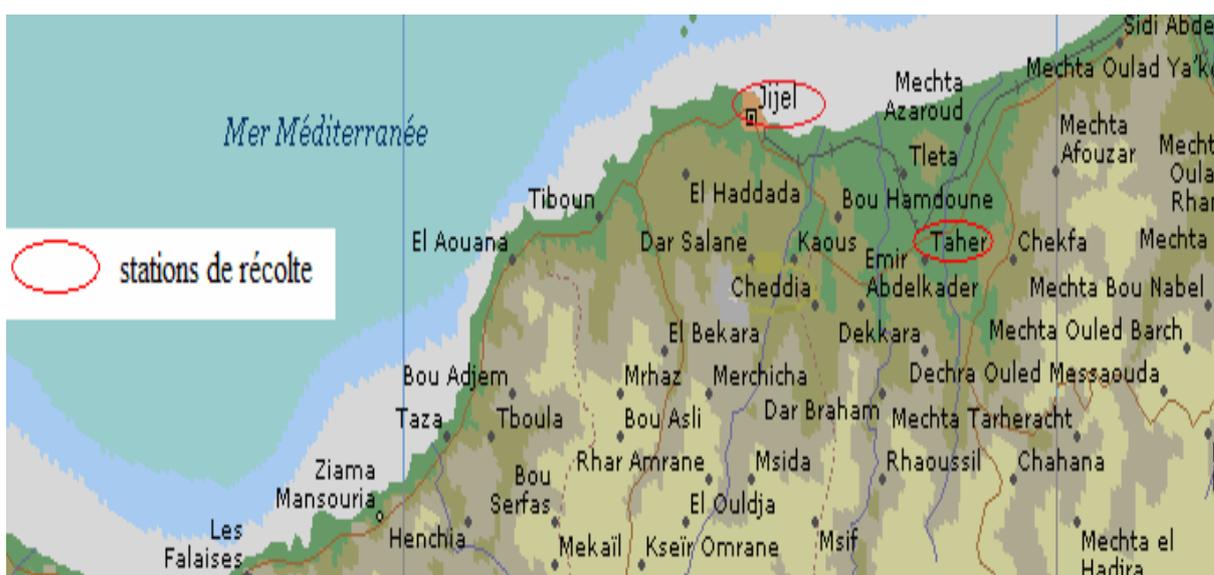


Figure 23 : Les situations géographiques des deux stations de récolte (google earth)

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

50 g de la poudre de chacune des deux échantillons ont été ajustés à 500 ml avec du méthanol 80%. Les mélanges ainsi obtenus sont soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur magnétique de type Heidolph (figure 24) pendant 48 h 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.

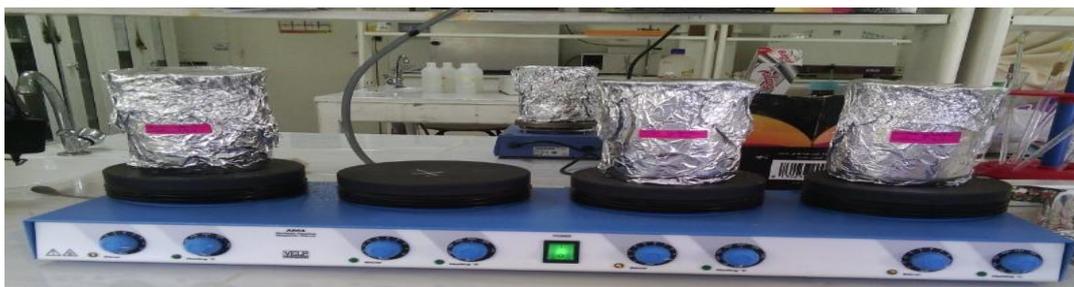


Figure 24 : Macération sous agitation magnétique

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 25). Chaque filtrat obtenu a été ajusté avec 100 ml d'hexane. Les mélanges ont été par la suite décantés (figure 26) pour recueillir la phase méthanolique.



Figure 25 : La filtration à l'aide du papier Whatman N°3



Figure 26 : 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 27) 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. Les extraits bruts végétaux ainsi constitués sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation pour les différents tests (Voir annexe 1 pour plus détaille).



Figure 27 : Evaporation des extraits phénoliques

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 :

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

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 Na_2CO_3 (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 (Voire annexes 2).

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = a X + b$) 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).

I.2.7. Dosage des flavonoïdes

La méthode au AlCl_3 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% AlCl_3 . Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance a été lue à 430 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante (Voire annexe 2).

Une courbe d'étalonnage ($Y = a X + b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons a servis pour la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait brute (mg EQ/g EB).

I.2.8 Dosage des tannins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de Hagerman et Butler (1978). Ce dosage est basé sur la formation des complexes tannins/protéines pouvant être dosés en utilisant le chlorure ferrique, qui forme avec eux un complexe donnant une coloration violette, mesurable par spectrophotométrie à 510 nm.

Brièvement, un volume de 2 ml de BSA (1mg/ml) préparé dans le tampon acétate (pH 5; 0,20 M) est mélangé avec 1 ml de l'extrait à 1mg/ml. Après 24h d'incubation à 4°C, les solutions ont été centrifugées à 5000 rpm pendant 20 min à l'aide d'une centrifugeuse (Bioblockscientific, Italiy). Le précipité débarrassé du surnageant est ensuite solubilisé et hydrolysé avec 4 ml de SDS/TEA et le mélange est agité vigoureusement par le vortex (Heidolph, Germany). Enfin, 1 ml de FeCl₃ (0,01M) préparé dans HCl 0,01 M, a été ajouté pour donner, avec les tannins, une couleur pourpre pendant 15 min de contact.

Les absorbances à la longueur d'onde de 510 nm (Voire annexe 3) sont traduites en milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait brute (mg EAT/g EB) à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide tannique.

I.3. Evaluation des activités biologiques des extraits phénoliques des plantes étudiées

I.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

Les méthodes évaluant l'activité antioxydante ont connu un intérêt important vue la recherche des substances antioxydantes naturelles. Les activités étudiées dans le présent travail sont le pouvoir réducteur de fer (FRAP) et le pouvoir antiradicalaire de DPPH.

I.3.1.1. Le 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 cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle 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 (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 (Voire annexe 4).

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.3.1.2. 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 [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 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 (**Balasandram et al., 2005**).

La détermination du pouvoir réducteur a été réalisée selon la méthode de 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 [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 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. Le protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des deux extraits ainsi que celui du standards est illustré par la (Voire annexe 4).

I.3.2. Evaluation de l'interaction extraits phénoliques / protéines

L'étude de la propriété d'interaction des composés phénoliques avec les protéines est réalisée avec une méthode spectrophotométrique. Dans ce contexte, la protéine majoritaire du blanc d'œuf « Ovalbumine » (OVB) est utilisée comme modèle de protéine pour l'étude de cette interaction. Cette protéine est composée de 385 résidus d'acides aminés. Sa composition en acides aminés montre que la moitié des résidus sont hydrophobes (**Croguennec et al., 2007**). C'est une protéine phosphorylée est glycosylée qui se trouve sous forme de monomère son poids moléculaire est de 45000 Da et son pH isoélectrique est de 4,5 (**Mine et al., 1991**).

L'étude de l'effet de la concentration des extraits de plantes, de la concentration de l'OVB ainsi que de la température sur les mécanismes interactionnels entre les polyphénols et les protéines est basée sur le même principe (De Freitas *et al.*, 2003 ; De Freitas et Mateus, 2001a ; Simon, 2003).

I.3.2.1. Effet de la concentration des extraits

La méthode utilisée est celle de Naczk *et al.*, (2006). Un volume de chaque extrait à différentes concentrations (0.5, 1 et 2 mg/ml) est ajouté à un volume de la solution d'OVB, à une concentration de 1mg/ml, préparée dans un tampon phosphate (pH 6.9, à 0.64 mM). La lecture de la densité optique est effectuée à 420 nm, contre un blanc, contenant un volume du méthanol et un volume de la solution d'OVB, après incubation à 37° C pendant une heure.

I.3.2.2. Effet de la concentration des protéines

Le protocole expérimental utilisé pour la mesure de la densité optique en fonction de la concentration d'OVB, est celui préconisé par De Freitas *et al.*, (2003).

Un volume de la solution d'OVB à différentes concentrations (0.5, 2 et 3 mg/ml), préparée dans un tampon phosphate (pH 6.9, à 0.64 mM), est ajouté à un volume de chaque extrait, à une concentration de 0,5 mg/ml. La lecture de la densité optique est effectuée à 420 nm, contre un blanc contenant un volume de méthanol et un volume de la solution d'OVB, après incubation à 37°C pendant une heure.

I.3.2.3. Effet de la température

L'influence de la température sur la formation du complexe polyphénols-OVB est réalisée selon la méthode décrite par De Freitas et Mateus, (2001a).

Un volume de la solution d'OVB à concentrations 1mg/ml, préparée dans un tampon phosphate (pH 6.9, à 0.64 mM) est ajouté à un volume de chaque extrait, à une concentration de 1 mg/ ml. La lecture de la densité optique est effectuée à 420 nm, contre un blanc contenant un volume du méthanol et un volume de la solution d'OVB, après incubation à différentes températures (5 à 90°C) pendant une heure.

II.4. Analyse statistique

Les moyennes et les écarts types sont calculés à partir de cinq essais avec Excel de Microsoft Office 2010.

Une analyse statistique est faite par le test de l'ANOVA à un facteur pour les résultats de l'activité antioxydante et de l'interaction extraits phénoliques-protéines, avec ORIGINE 60.

II. Résultats

II. Résultats

II.1. Les pourcentages des rendements des extraits phénoliques

Les pourcentages des rendements des extraits phénoliques varient selon la plantes. Il est de 08,36% pour *Urtica dioica* et de 13,04% pour *Mentha rotundifolia*

La figure 28 présente les rendements en pourcentages des extraits méthanoliques pour les deux plantes.

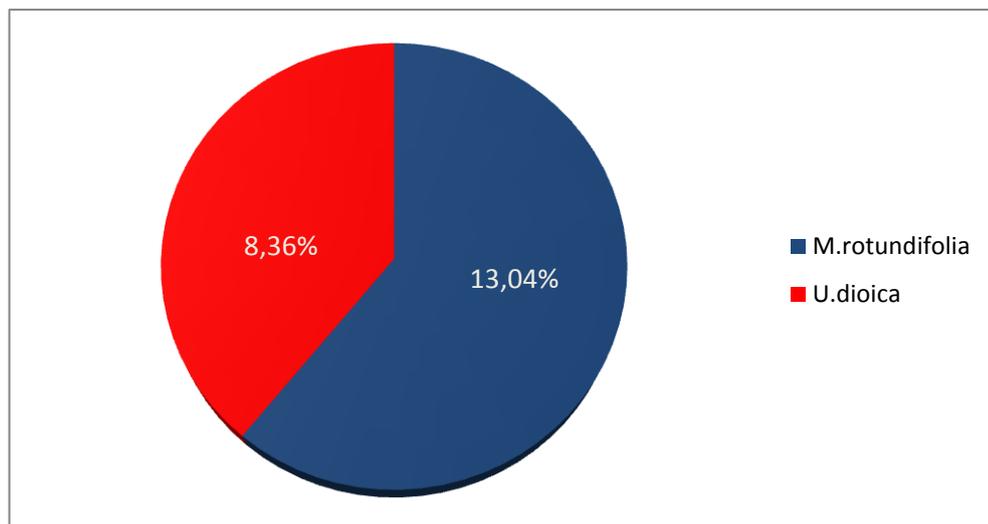


Figure 28 : Les rendements des extraits méthanoliques des deux plantes en pourcentage

II.2. Teneurs en composés phénoliques des deux extraits

L'étude quantitative des extraits phénoliques au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer de la teneur totale substances phénoliques (polyphénols et flavonoïdes et tannins). Pour cet objectif ; trois courbes d'étalonnages (figures 29, 30 et 31) ont été tracées ; une réalisée avec un l'acide gallique à (dosage des polyphénols), l'autre avec la quercétine (dosage des flavonoïdes) et la dernière avec l'acide tannique (dosage des tannins). Des mesures de densité pour chaque extrait sont réalisées à 750 nm et 430 nm et 510 nm pour les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins respectivement.

Les quantités des composés phénoliques ont été rapportées en mg équivalent de l'étalon utilisé par gramme d'extrait brut et sont déterminées par l'équation de type : $Y = a X + b$.

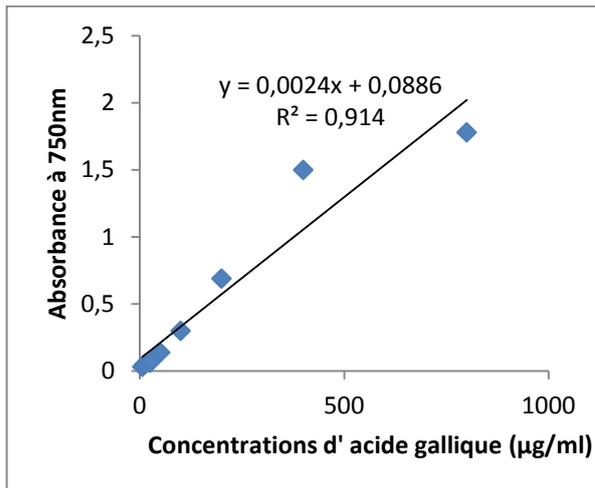


Figure 29 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols

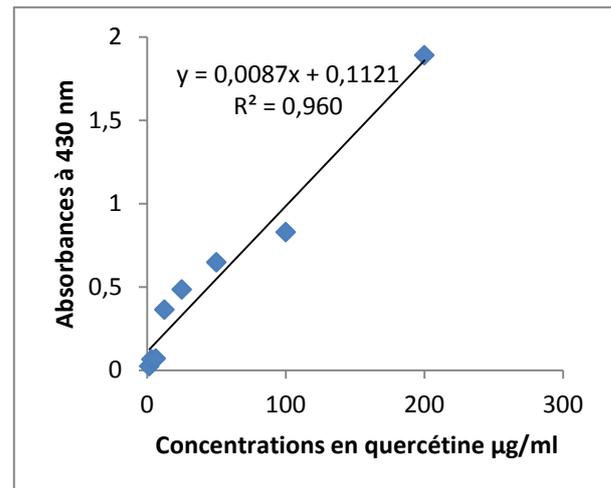


Figure 30: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

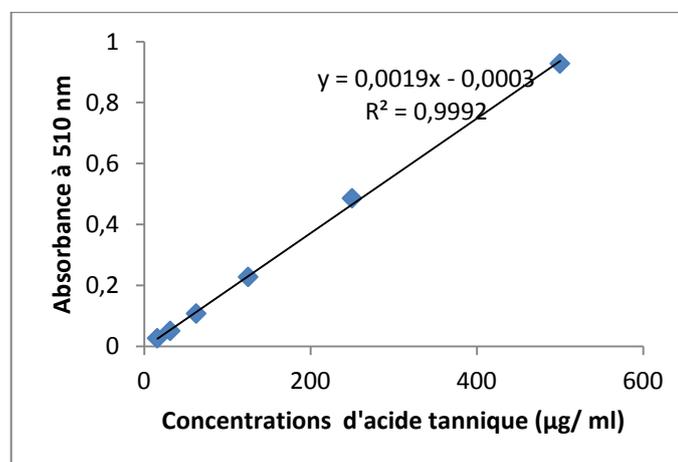


Figure 31: Courbe d'étalonnage pour le dosage des tannins

Les résultats obtenus pour évaluer la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins sont présentés dans les figures (29), (30) et (31)

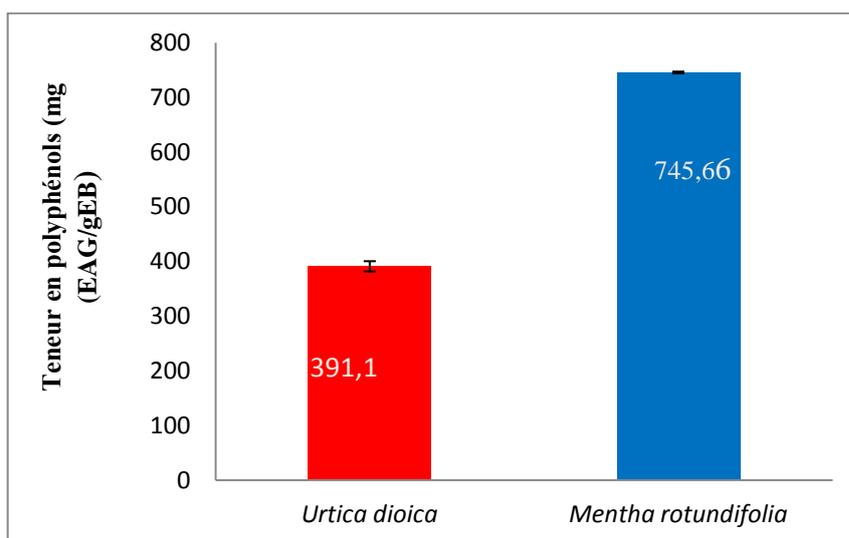


Figure 32 : La teneur en polyphénols en mgEAG/gEB de l'extrait des deux plantes. Ces résultats montrent que la fraction méthanolique du *Mentha rotundifolia* possède la plus haute teneur en polyphénols ($745,66 \pm 1,66$ mg EAG/gEB) par rapport à *Urtica dioica* qui a une teneur de $391,1 \pm 9,43$ mg EAG/gEB.

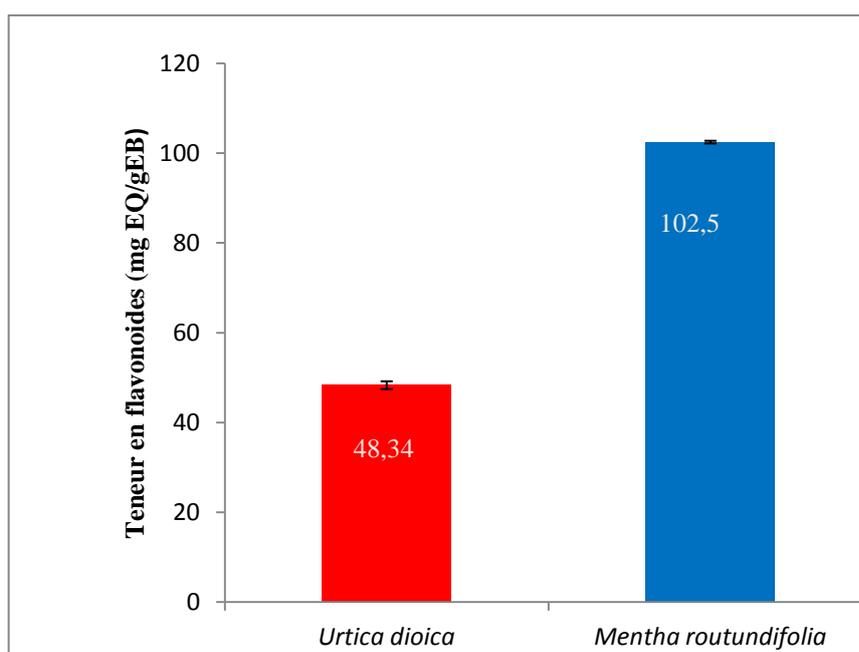


Figure 33 : La teneur en flavonoïdes en mg EQ/gEB de l'extrait des deux plantes. En ce qui concerne la teneur en flavonoïdes; l'extrait de *Mentha rotundifolia* est aussi le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de $102,5 \pm 0,30$ mg EQ/gEB.

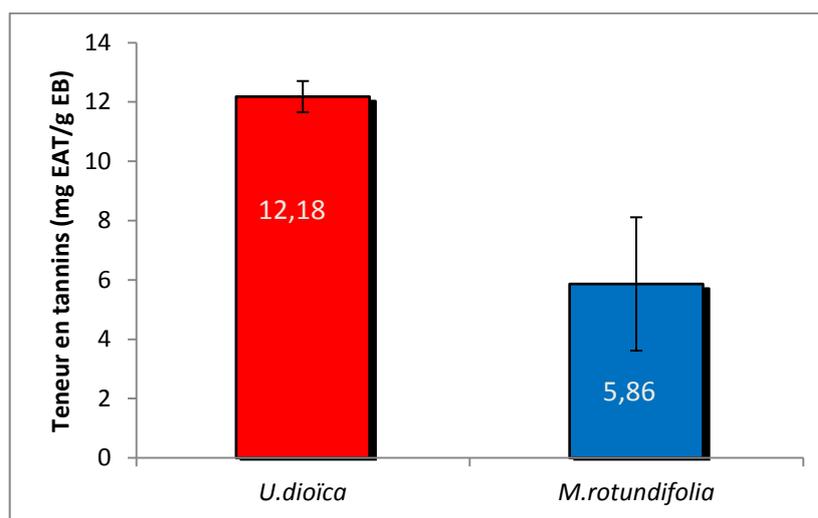


Figure 34 : La teneur en tannins en mgEAT/gEB de l'extrait des deux plantes.

Le dosage des tanins condensés montre la haute teneur de ces molécules dans l'extrait d'*Urtica dioica* ($12,18 \pm 0,52$ en mgEAT/gEB), par rapport à l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* qui contient une valeur moyenne $5,86 \pm 2,24$ mg EAT/g EB.

II.3. Activité antioxydante

L'activité antiradicalaire des extraits de *Mentha rotundifolia* et d'*Urtica dioica* ainsi que le standard (α tocophérol) a été déterminées par deux méthodes : le teste DPPH et méthode de la réduction du fer.

II.3.1. Test au radical DPPH

L'activité antioxydante des extraits des deux plantes à différents concentrations vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 515 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV et la figure 35

Tableau IV : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait des deux plantes et du standard exprimé en pourcentage

	25 μ g/ml	50 μ g/ml	75 μ g/ml	100 μ g/ml	125 μ g/ml
<i>a-tocophérol</i>	34,44 \pm 0,55	39,11 \pm 0,55	41,11 \pm 0,36	53,39 \pm 0,40	75,17 \pm 0,60
<i>U. dioica</i>	78,61 \pm 0,83	79,38 \pm 1,91	79,76 \pm 0,68	80,54 \pm 1,10	81,23 \pm 1,14
<i>M. rotundifolia</i>	84,98 \pm 0,84	83,55 \pm 1,11	83,05 \pm 0,34	85,52 \pm 0,96	86,79 \pm 0,32

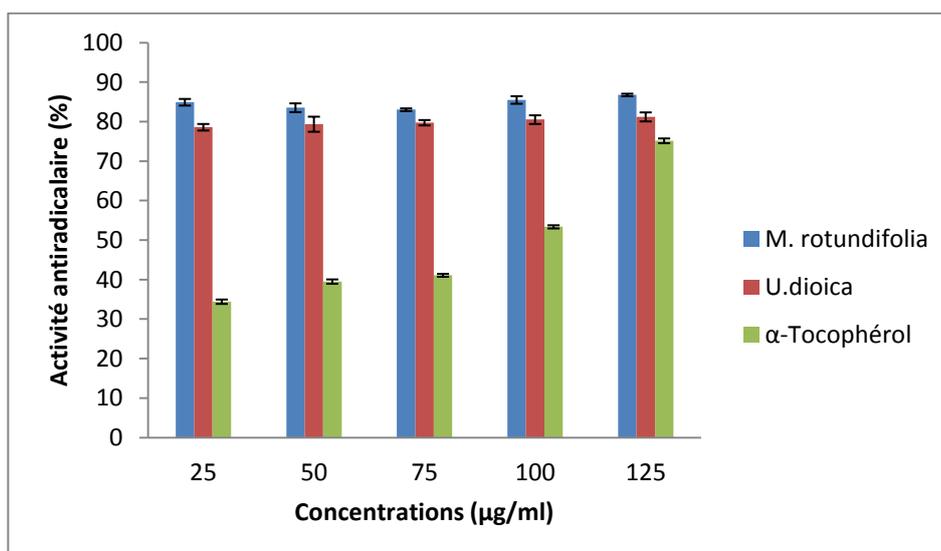


Figure 35: Pouvoir antiradicalaire de l'extrait des deux plantes et du standard exprimé en pourcentage

Par rapport au standard (a-tocophérol), les deux extraits possèdent une bonne capacité de neutralisation du radical libre DPPH. La différence est significative ($p < 0,05$).

Le pourcentage d'inhibition du *Mentha rotundifolia* est le plus importante pour toutes les concentrations des extraits, cette différence s'avèrent significative ($p < 0,05$).

La figure 36 indique l'existence d'une corrélation bonne positive et linéaire ($r = 0,99$) entre les concentrations des extraits de plantes et leurs activité antiradicalaire

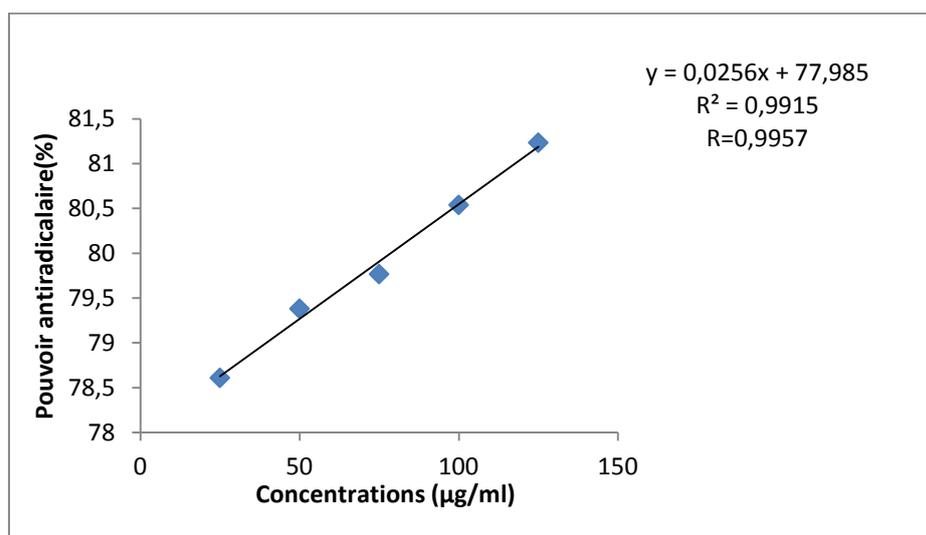


Figure 36 : Corrélation entre les concentrations des extraits et le pouvoir antiradicalaire

II.3.2 Méthode de la réduction du fer

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des deux plantes est déterminé par la mesure de l'absorbance à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation de pouvoir réducteur (figure 37).

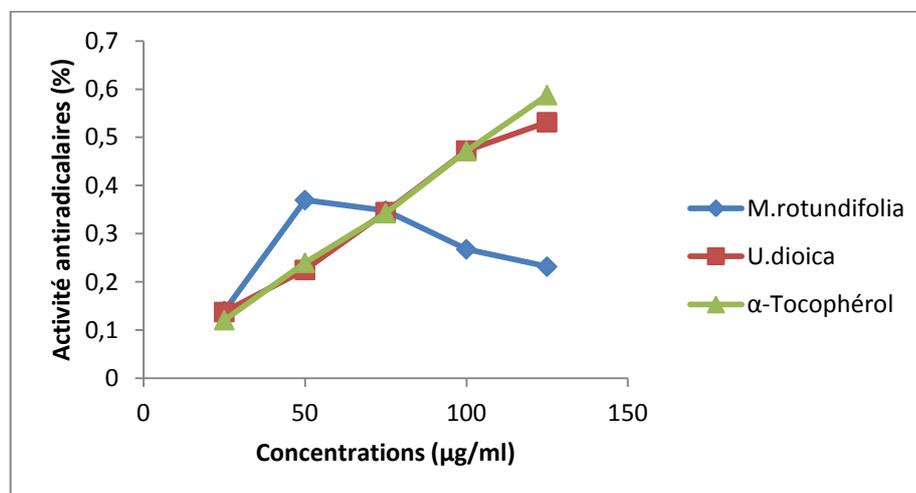


Figure 37 : Pouvoir réducteur de l'extrait des deux plantes Et le standard exprimé en pourcentage

Les résultats montrent clairement que l'activité réductrice de *Urtica dioica* augmente au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente, cette activité est nettement similaire à celle de l'α-tocophérol.

De 25 à 50 µg/ml une augmentation significative de l'activité réductrice de *Mentha rotundifolia* en fonction de la concentration est enregistrée ($p < 0,05$). Au delà de 50 µg/ml, une diminution significative de cette activité est remarquée ($p < 0,05$).

La figure 38 indique l'existence d'une corrélation positive et linéaire ($r = 0,99$) entre le pouvoir réducteur Fe et la concentration des composés phénoliques. Ces résultats montrent la contribution de la concentration des composés phénoliques dans le pouvoir réducteur Fe.

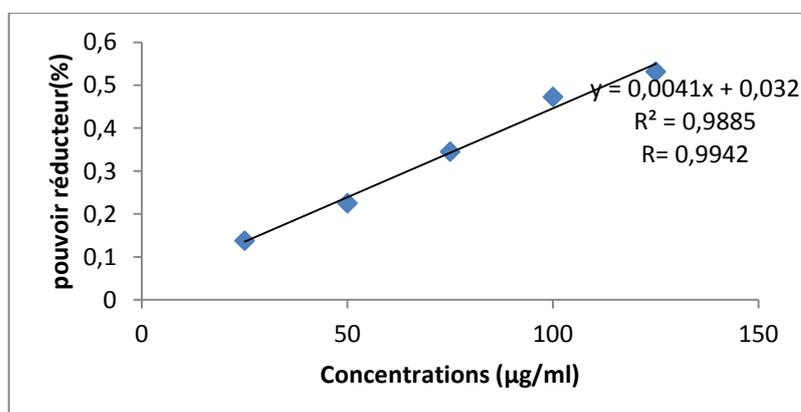


Figure 38 : Corrélation entre des extraits des plantes et le pouvoir réducteur

II.4. Interaction extraits phénoliques-protéines

II.4.1. Effet de la concentration des extraits

La mise en contact des extraits de plantes à différentes concentrations avec une solution d'OVB (1mg/ml) conduit à l'apparition d'un trouble issu de la formation des complexes polyphénols-protéines. Les valeurs obtenues sont illustrées dans le tableau V et la figure 39:

Tableau V: Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées

	0,5 mg/ml	1 mg/ml	1,5mg/ml	2 mg/ml
<i>M.rotundifolia</i>	0,24±0,009	0,39±0,01	0,48±0,008	0,56±0,002
<i>U.dioica</i>	0,38±0,01	0,50±0,03	0,67±0,01	0,76±0,027

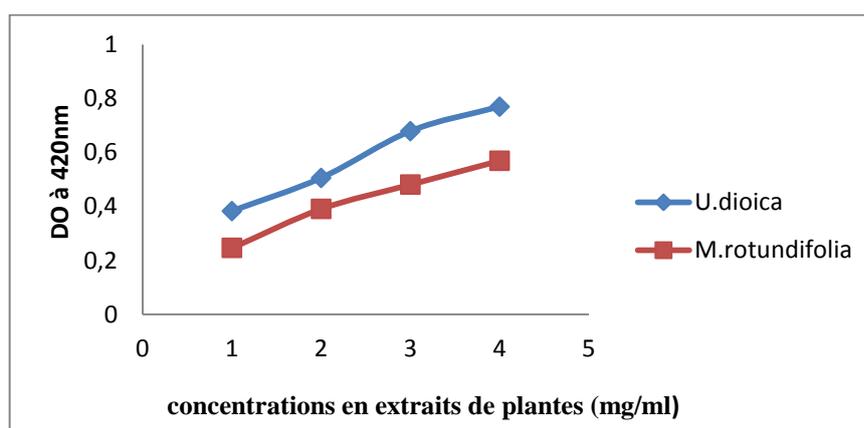


Figure 39: Variation de la densité optique en fonction de la concentration des extraits de plantes étudiées

Les courbes obtenues montrent nettement que la turbidité est influencée par la concentration des extraits de plantes. L'augmentation de la DO est significative en fonction de la concentration. L'analyse statistique révèle que l'élévation de la turbidité en fonction de la concentration des extraits de *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica* est significative ($p < 0,05$). *Urtica dioica* est la plante la plus riche en site de liaison avec la protéine par rapport à *Mentha rotundifolia*, avec une différence significative ($p < 0,05$).

La figure 40 indique la présence d'une corrélation positive et linéaire ($r = 0,98$) entre les concentrations des extraits de plantes et la formation de complexe protéine-composé phénolique

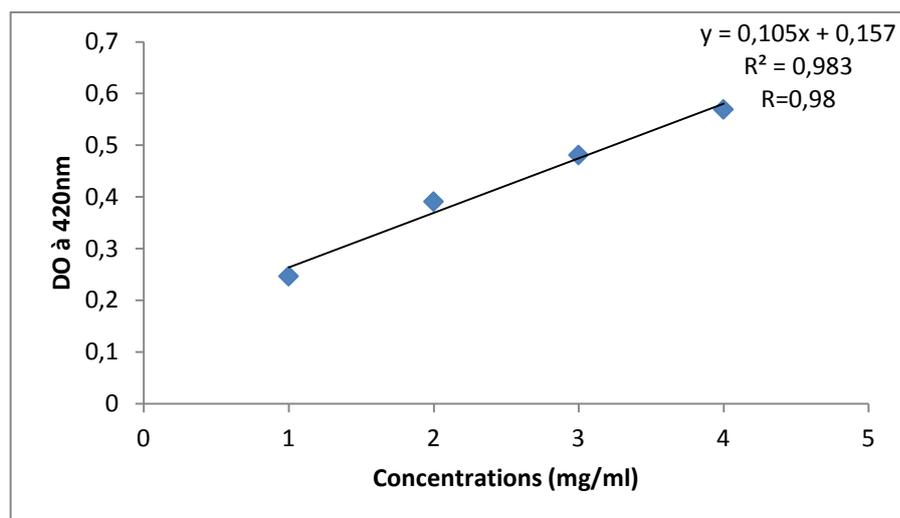


Figure 40: Corrélation entre la concentration des extraits et la formation de complexe protéine-composé phénolique

II.4.2. Effet de la concentration de la protéine

Les résultats obtenus du suivi de la turbidité des mélanges (extraits phénoliques de plantes et solution d'OVB) en fonction de la concentration d'OVB, sont représentés dans le tableau VI et la figure 41:

Tableau VI: Variation de la densité optique en fonction de la concentration de la protéine

	0,5 mg/ml	1 mg/ml	2 mg/ml	3 mg/ml
<i>M.rotundifolia</i>	0,39±0,01	0,55±0,016	1,35±0,06	1,11±0,03
<i>U.dioica</i>	0,39±0,01	0,72±0,065	1,48±0,44	1,35±0,10

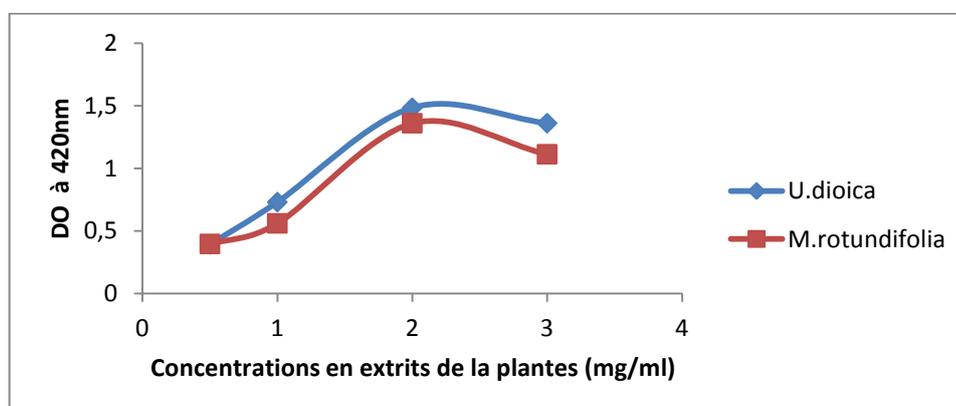


Figure 41 : Variation de la densité optique en fonction De la concentration de la protéine

La figure 41 montre que la DO augmente au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente, à une certaine concentration (2mg/ml), la DO diminue et enregistre des courbes plus au moins sous forme de cloche.

L'analyse statistique indique que l'élévation de turbidité en fonction de la concentration des extraits de *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* allant 0,5 à 2 mg est significatif ($p < 0,05$). et s'avère non significative au-delà de 2 à 3mg/ml qui présente des concentrations saturantes à partir desquelles la variation de la densité optique tend à presque stable.

La figure 42 montre la présence d'une corrélation positive et significative ($r = 0,83$) entre les concentrations de protéine et la formation de complexe protéine –composé phénolique.

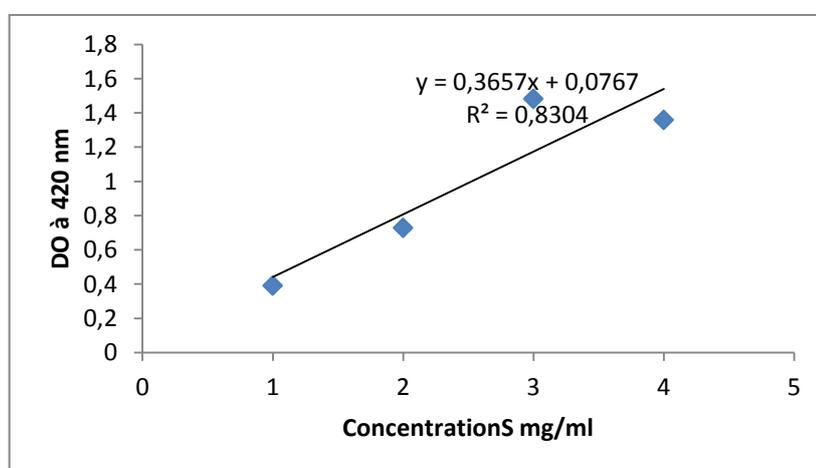


Figure 42 : Corrélation entre la concentration de protéine et la formation de complexe protéine-composé phénolique

II.4.3. Effet de la température

L'évaluation de l'interaction des extraits de plantes (1mg/ml) et l'OVB (1mg/ml) à différentes températures (5 à 90°C) est montrée dans le tableau VII et la figure (43) :

Tableau VII : Variation de la densité optique des mélanges extraits phénoliques/Ovalbumine en fonction de la température

	5°C	25°C	37°C	60°C	90°C
<i>M.rotundifolia</i>	0,45±0,02	0,44±0,02	0,53±0,05	0,39±0,02	0,24±0,010
<i>U.dioïca</i>	0,51±0,05	0,53±0,03	0,58±0,01	0,43±0,02	0,29±0,09

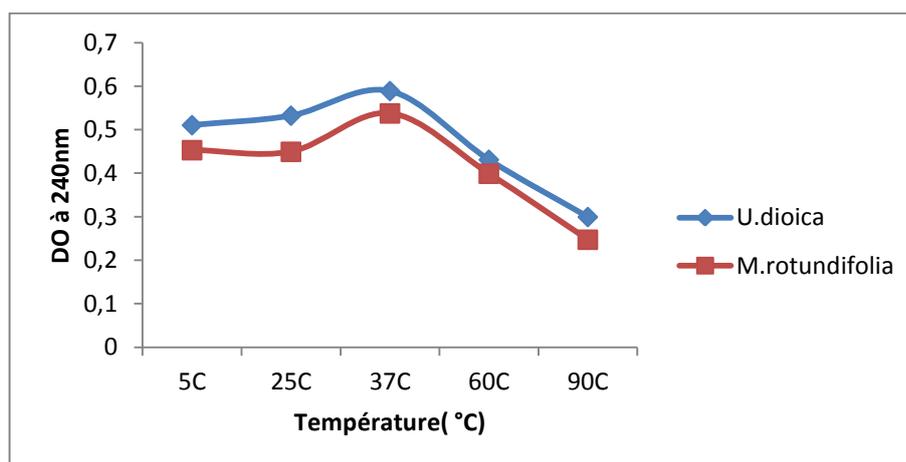


Figure 43 : Variation de la densité optique des mélanges extraits phénoliques/Ovalbumine en fonction de la température

D'après l'allure des courbes montrées dans la figure (47) on peut diviser l'évaluation de la turbidité, des mélanges (extraits de plantes/OVB), en fonction de la température en trois groupes :

- L'effet de la température, sur la formation des complexes polyphénols-protéines, allant de 5 à 25°C s'avère non significative ($p < 0,05$) ;
- Une augmentation significative, en fonction de la température, dans les températures allant de 25 à 37°C ; ($p < 0,05$)
- En appliquant des températures supérieures à 37°C une diminution significative de la turbidité est obtenue.

III. Discussion

III. Discussion

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'activité antioxydante des extraits brutes de deux plants: *Urtica dioïca* et *Mentha rotundifolia*. Ces deux plantes de la région de Jijel sont mutilées localement par la médecine traditionnelle, raison pour la quelle nous avons procédé à l'extraction des polyphénols responsables de son éventuelle activité antioxydante.

L'efficacité de l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de la méthode d'extraction, de la granulométrie de la poudre utilisée et du temps de macération (Nacz et Shahidi, 2004; Rodriguez-Meizoso et al., 2006). Elle dépend également, de la température et de la nature du solvant (Rodriguez-Meizoso et al., 2006).

Dans la présente étude, l'extraction est réalisée à partir de la partie aérienne de deux plants. Nous avons utilisé le méthanol comme solvant, et un dosage de polyphénols furent réalisés afin de choisir la meilleure plante. Après séchage au rotavapor, le recouvrement, était de 13,04% et 8,36% pour *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* respectivement, les pertes étaient importantes. Ceci s'explique par la solubilité des composés phénoliques dans le solvant d'extraction et leur degré de polymérisation ou à leur implication dans l'autres structures moléculaires formants ainsi des complexes insolubles (Cacace et Mazza, 2002; Falleh et al., 2008).

L'étude quantitative des extraits bruts de *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer leurs teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués.

Les polyphénols sont estimés par plusieurs méthodes dont la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait de *Mentha rotundifolia* représente l'extrait le plus riche avec: 745,66 mg EAG/gEB par rapport à l'extrait de *Urtica dioïca* (391,1 mg EAG/gEB).

Ces résultats sont supérieures aux résultats cites par Madi (2010) réalisé sur *Mentha piperita* qui étaient à l'ordre de 309,42 mg/g et les résultats de Bencheikh (2012) réalisé sur l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* qui à étaient ordre de 183,45 mg/g.

Les tenure en composé phénolique obtenues par Daoudi et al., (1997) travaillant sur les espèces d'*Urtica piluliferae*, *Urtica membranacea* et *Urtica urens* sont de l'ordre de 2,313 mg/30g, 1,498 mg/30g et 0,06 mg/30g respectivement et qui sont largement inférieures à nos résultats (391,1 mg/30g).

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre cela peut être attribué à plusieurs facteurs comme les conditions d'extraction en terme de température et le nombre d'étapes d'extraction (**Scalbert, 1991; Escribano-Baillon et al., 2001; Santos-Buelga et al., 2000; Suhaj, 2006; Tawaha et al., 2007**) ainsi que l'état et l'origine de l'échantillon en terme de provenance géographique et le matériel végétal appartenant à des espèces différentes, aussi la saison de collecte et de cultivar (**Ranalli et al., 2006; Falleh et al., 2008; Li et al., 2009**)

La détermination quantitative des flavonoïdes été effectuée par la méthode de trichlorure aqueux. Les résultats montrent que les feuilles de *Mentha rotundifolia* enregistrent la plus forte teneur en flavonoïdes 102,5 mg EQ/gEB et les feuilles d'*Urtica dioïca* sont les moins riches en flavonoïdes 48,43 mg EQ/gEB.

D'après les travaux réalisé sur le même genre de la *Menthe*, **Madi (2010)** trouvé une teneur de 48mg/g chez *Mentha piperita*. **Conforti et al., (2008a)** obtenue une teneur de 15,75 mg /g chez *Mentha aquatica*. Ces résultats sont inférieurs à nos résultats. Les teneur en flavonoïdes obtenues par Daoudi et al., (1997) travaillant sur les espèces d'*Urtica piluliferae*, *Urtica membranacea* et *Urtica urens* sont de l'ordre de 0,337 mg EQ/30g, 0,05 mg EQ/30g , 0,005 mg EQ/30 g respectivement et qui sont largement inférieures à nos résultats (48,34mg/g).

La différence de la solubilité des flavonoïdes dans différents solvants, qui est liée à leur diversité structurale, peut affecter leurs quantifications (**Sharififar et al., 2009**).

D'après Rawel et al., (2005), les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des plantes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes. En effet. Ceux-ci sont sensibles à l'oxydation et ont tendance à former des polymères donnant ainsi des tannins condensés (**Manach et al., 2004**) ce qui pourrait expliquer ces différences de concentrations. Aussi. La composition en flavonoïdes d'une plante dépend de la température et des quantités de phosphore d'Azote disponibles (**Dixon et Pavia, 1995**).

La méthode utilisée pour le dosage des tannins est basée sur la capacité des tannins à former des complexes insolubles avec la protéine BSA et de former des solutions colorées avec certains métaux.

Les résultats montrent la haute teneur de tannin dans l'extrait d'*Urtica dioïca* 12,18 mgEAT/gEB, par rapport à l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* qui contient une valeur moyenne 5,86 mg EAT/g EB. Cette différence des teneurs retrouvées dans différents échantillons soit due à la différence du matériel végétal utilisé.

Mehanso *et al.*, (1987) , ont montré que les concentrations en tannins varient largement au sien de la même espèce végétale selon le cultivar , l'âge de la plante et les caractéristiques de site de croissance. Selon Makkar *et al.*, (2003), les tannins condensés augmentent avec la maturation des feuilles.

L'étude de l'activité antiradicalaire des deux plantes étudiée montre que *Mentha rotundifolia* possède la plus forte activité antiradicalaire par le test au DPPH par rapport *Urtica dioïca*. De plus, ces plantes comprennent en leur sien, des composés phénoliques dont la teneur est on adéquation avec l'activité antiradicalaire traduite ici par les tests au DPPH. La forte activité antioxydant de *Mentha rotundifolia* serait donc liée à sa fort teneur en polyphénols totaux. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Bidie *et al.*, (2010). Selon ses auteurs les plantes qui possèdent une bonne activité antioxydantes contiennent de fortes teneurs en groupement phénoliques.

La différence de pouvoir antiradicalaire entre les échantillons est due probablement à la variation des espèces de plantes utilisées et à la teneur et la nature de leurs composés phénoliques.

Gulluce *et al.*, (2007) on montré que l'extrait méthanolique de *Mentha longifolia* piège 50 % de radicale DPPH à une concentration de 0,057mg /ml ce qui est inférieure de nos résultats 83,55% à une concentration de 0,05mg/ml.

L'activité antioxydante des extraits de *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Elle est basée sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} .

Notre résultat montre que *Mentha rotundifolia* enregistre le pouvoir réducteur le plus élevé par rapport à *Urtica dioïca*. Cela est due vraisemblablement à leur teneur élevée en polyphénols totaux et la structure des composés phénoliques (en particuliers le degré et la position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule) (**Sharififar *et al.*, 2009; Scherer et Gody, 2009**).

En ce qui concerne l'évaluation de l'interaction extraite phénolique/ protéine pour l'effet de concentration des l'extraits, la variation des résultantes entre les deux plantes peut être attribuée à la nature de composition de leurs composés phénoliques. D'après les résultats des dosages, *Urtica dioïca* est l'espèce la plus riche en tannins. Cette plante a montré des interactions intenses par rapport à *Mentha rotundifolia*. Cela nous mène à conclure que les tannins sont responsables en majeure partie des complexes formés. En effet, plusieurs travaux ont

démontré que les tannins fixent les protéines et forment des complexes insolubles (**Eagles et Wakeman, 2001; Vergé *et al.*, 2002; Tirelli et De Noni, 2007**).

Les tannins jouent un rôle de ligand polydenté, ils s'associent avec les protéines par des interactions hydrophobes et par des liaisons hydrogènes (**Hagerman et Butler, 1978; Xu et Diosady, 2002; Bennik, 2002; Vergé *et al.*, 2002; Poncet-Legrand *et al.*, 2006**). Ces dernières se forment entre les groupements hydroxyles des phénols et les groupements carbonyles des protéines (**Yan et Bennick, 1995; Santos-Buelga et Scalbert, 2000**). D'après Tiziani *et al.*, (2008), les tannins peuvent aussi former des liaisons ioniques, hydrogènes et parfois covalentes avec les groupements aminés et hydroxyles des protéines. Les complexes ainsi formés deviennent moins hydrophiles que la protéine elle-même, ce conduit à la précipitation (**Frazier *et al.*, 2003; Richard *et al.*, 2006**).

Il a été rapporté que l'augmentation de la masse moléculaire, le degré de polymérisation et le nombre de groupements hydroxyles des composés phénoliques accroît l'affinité et favorise la précipitation avec les protéines (**Siebert *et al.*, 1996; Rawel *et al.*, 2002; Tirelli et De Noni, 2007; Cosme *et al.*, 2008**).

Pour l'effet de la concentration de la protéine, la DO augmente et à une certaine concentration diminue. Les mêmes observations ont été rapportées par De Freitas et ses collaborateurs (2003), en étudiant l'interaction polyphénols-BSA. D'après ces auteurs, l'addition progressive de la BSA provoque une dissociation des agrégats insolubles. Ceci peut s'expliquer par la réversibilité des interactions polyphénols-protéines et par le changement stœchiométrique du complexe formé, à cause du changement du rapport entre polyphénols et protéines (**De Freitas *et al.*, 2003; Naczki *et al.*, 2006**).

En effet Siebert *et al.*, (1996) et Poncet-Legrand *et al.*, (2006) ont montré que la quantité des complexes polyphénols-protéines formés dépend de la concentration de protéines, des polyphénols et du rapport entre les deux.

Pour l'effet de température, nous avons divisé l'évaluation de la turbidité des mélanges (extrait de plantes /Ovalbumine), en fonction de la température en trois groupes, l'effet de température sur la formation des complexes polyphénols-protéines, s'avère non significative de 5 à 25 °C, puis on a remarqué une augmentation significative de 25 °C à 37 °C, et enfin à plus de 37 °C il y a eu une diminution significative de la turbidité.

Sundar Ghosh et ces collaborateurs (2008) rapportent, qu'en présence de polyphénols avec un degré de polymérisation élevé, la température renforce les interactions hydrophobes, contrairement aux liaisons hydrogènes qui diminuent avec l'augmentation de la température, ce qui explique l'élévation de la turbidité en appliquant des températures allant de 25°C à 37°C, ce qui mène à conclure que l'interaction entre les extraits des plantes étudiées et d'OVB est de type hydrophobe. Cette liaison se forme principalement entre les groupements galloyls, qui comportent plusieurs groupements hydroxyles des tanins et les cycles pyrrolidine des prolines (**Vergé *et al.*, 2002; Richard *et al.*, 2006**).

D'après Prigent (2005), la dénaturation de la protéine induit la diminution de sa surface totale et donc la diminution du nombre d'acides aminés exposés à la surface et donc les sites de liaisons des polyphénols.

Conclusion

Conclusion

L'industrie pharmaceutique utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et les chercheurs trouvent chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse. Parmi ces molécules, les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature.

La présente étude avait pour objectifs le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins de deux plantes médicinales étudiées *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioïca*, ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et l'interaction avec les protéines.

L'étude phytochimiques a prouvé la richesse des feuilles de l'espèce de *Mentha rotundifolia* en composés phénoliques totaux par rapport à l'espèce d'*Urtica dioïca*.

Il est clair, que les résultats de notre travail, nous paraissent d'emblée intéressants et apportent une validation à l'utilisation traditionnelle de ces espèce végétale.

Les polyphénols de *Urtica dioïca* et *Mentha rotundifolia* ont montré qu'elles sont dotées d'une activité antioxydante par deux méthodes, le test de DPPH et le teste réducteur de fer (FRAP). La première méthode indique la capacité des plantes étudiées à piéger ce radicale. Ce potentiel s'élève avec l'augmentation des concentrations des extraits de plantes ce qui peut refléter la quantité d'antioxydants présents dans les différentes échantillons. La deuxième méthode a montré que l'extrait de *Urtica dioïca* possède une capacité à réduire le fer similaire que celle de α -tocophérol.

Au cour de ce travail, une deuxième propriété biologique des composés phénoliques a été démontré par l'étude interactionnelles de l'OVB avec les extraits des deux plantes. Ces interactions sont fortement influencées par la variation des concentrations de l'OVB et des extraite phénoliques.

Toutefois, une température inférieure à 25 °C n'a aucun effet statiquement sur la formation des complexes polyphénol-protéine, au-delà les interactions se renforcent dans le cas ou la protéine n'est pas dénaturée.

Ces résultats *in vitro* ne constituent qu'une première étape de recherche de produits antioxydants nouveaux et naturels à proposer en médecine.

Dans cette perspective et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de procéder à une caractérisation qualitative plus poussée, de ces extraits par la détermination des structures et propriétés chimiques de leurs composés phénoliques.

De même, une réflexion et des essais sur le mode d'utilisation de ces métabolites secondaires naturellement présents dans les plantes méritent d'être menés pour leur utilisation à la place de l'antioxydant de synthèse. Ces substances se substitueraient alors aux produits chimiques habituellement utilisés comme antioxydants.

Les annexes

Annexes 1

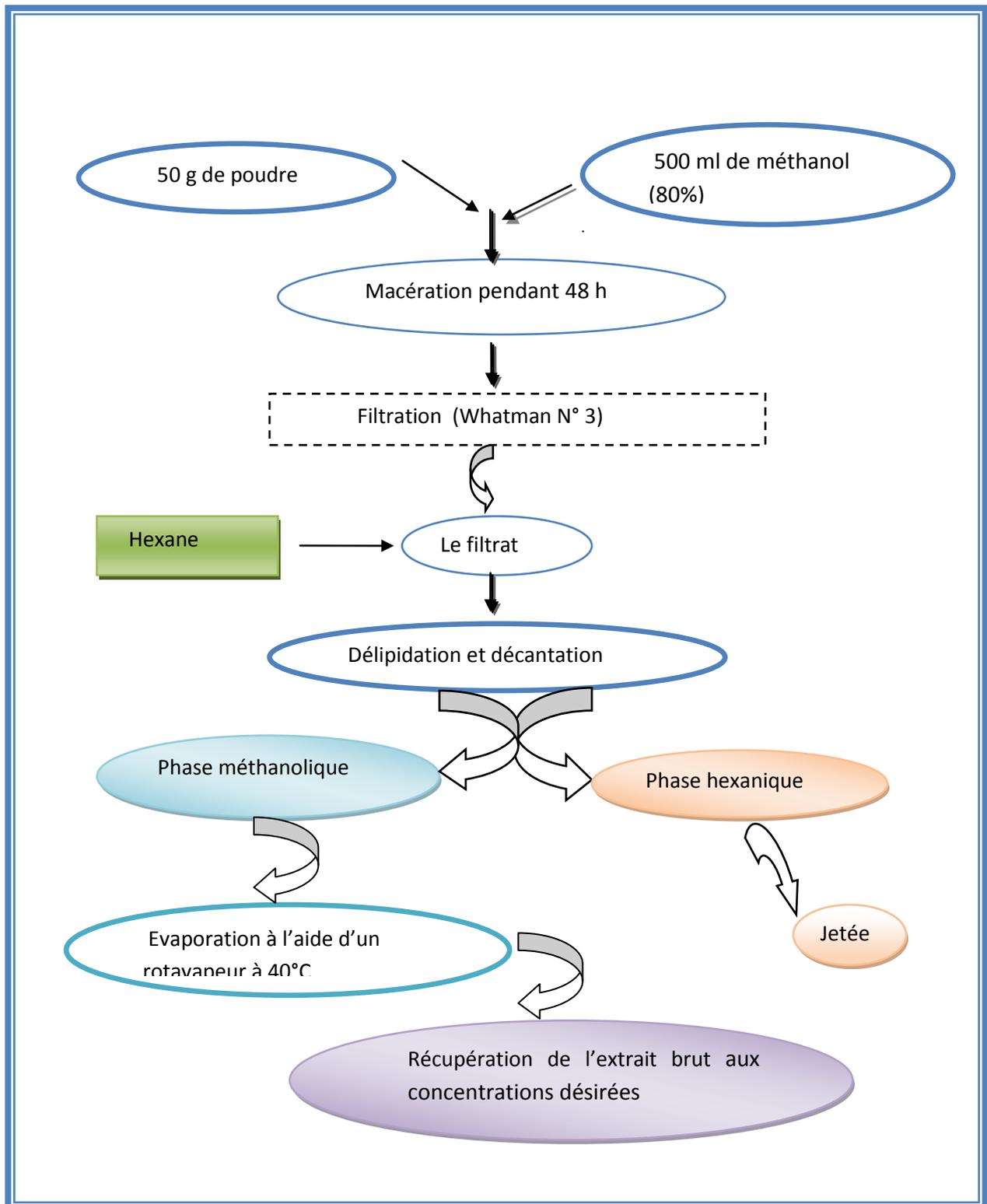


Figure : Protocole général d'extraction des composés phénoliques

Annexe 2

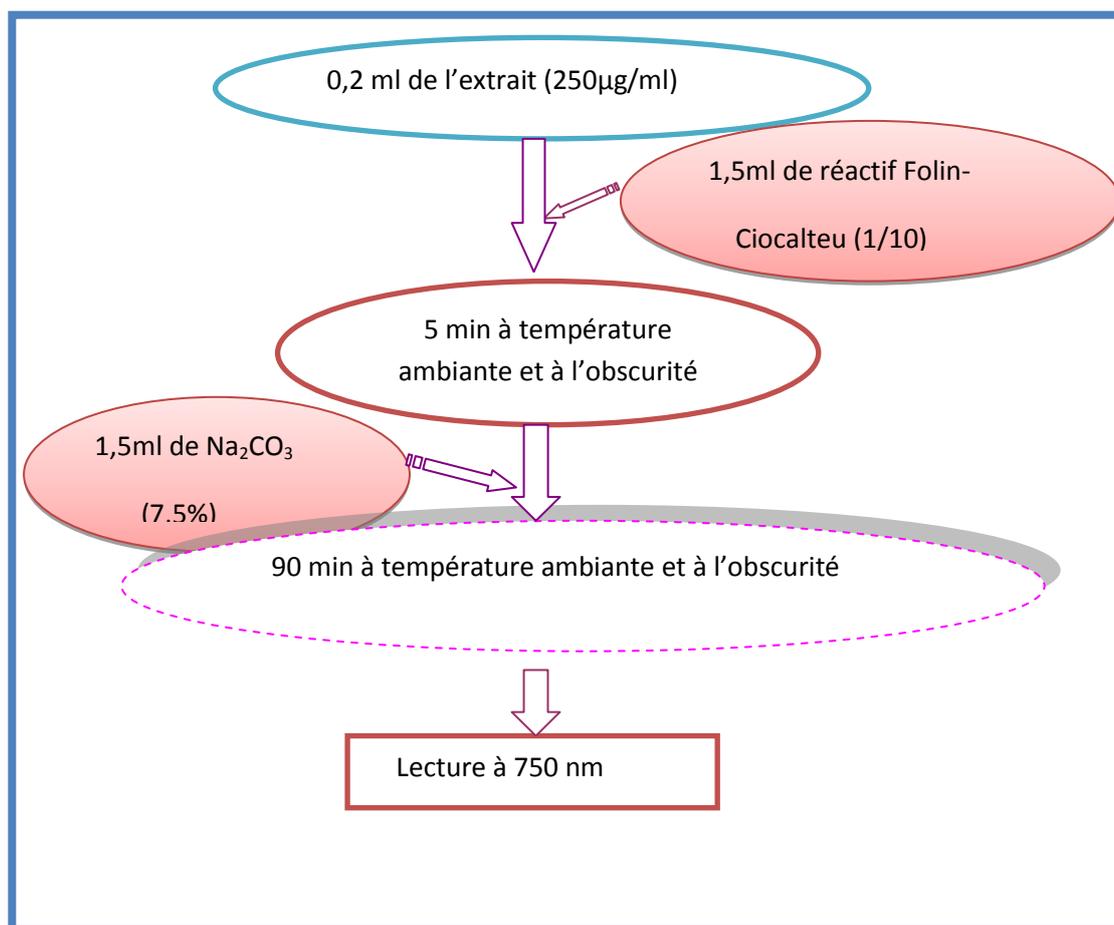


Figure : Protocole de dosage des composés phénoliques

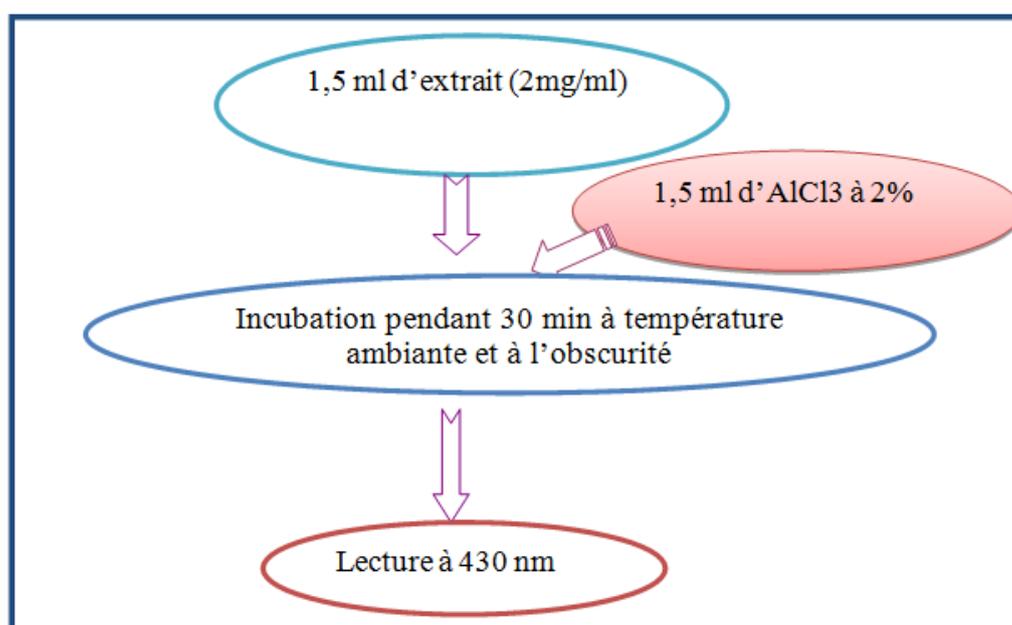


Figure : Protocole de dosage des flavonoïdes

Annexe 3

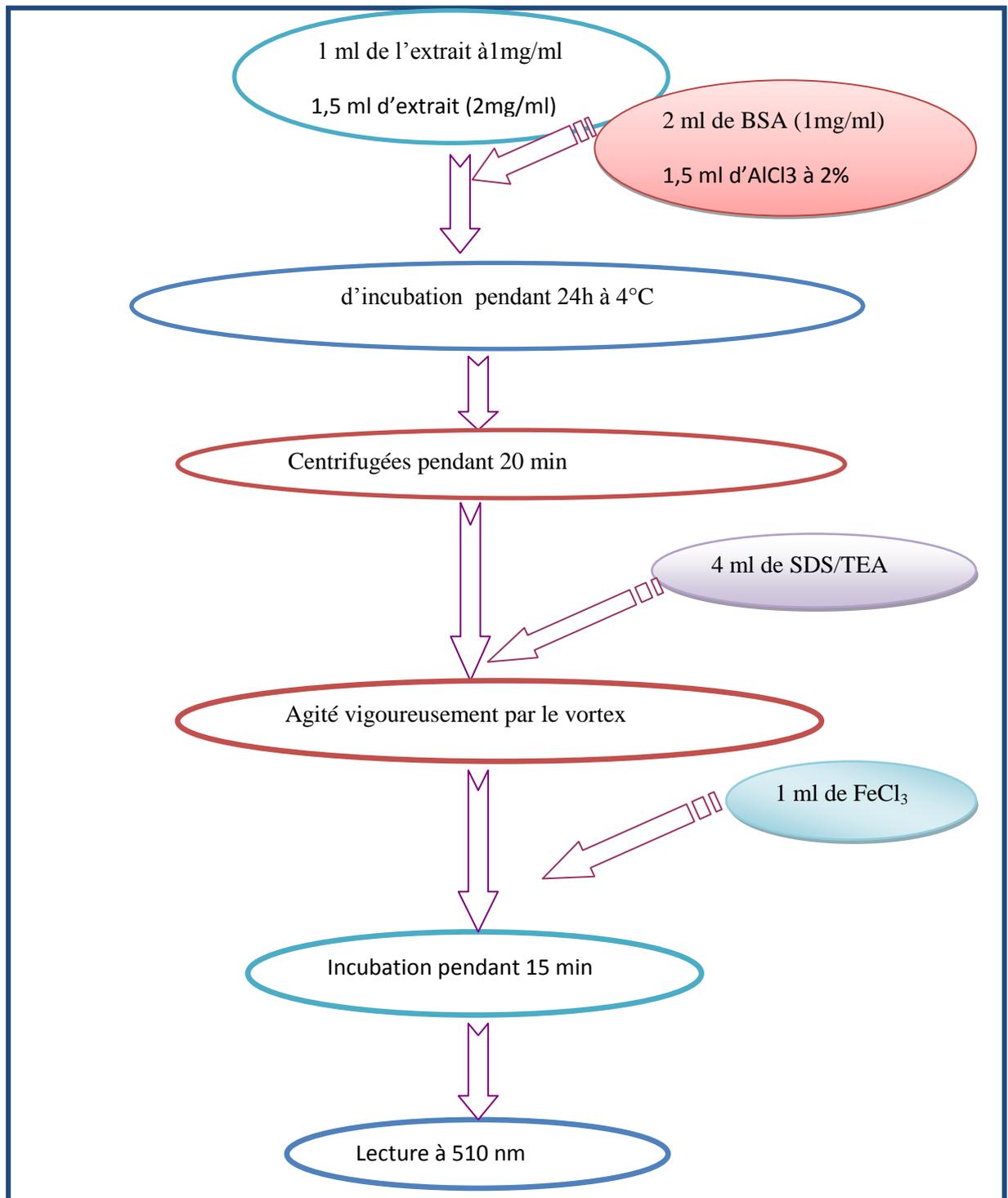


Figure : Protocole de dosage des tannins

Annexe 4

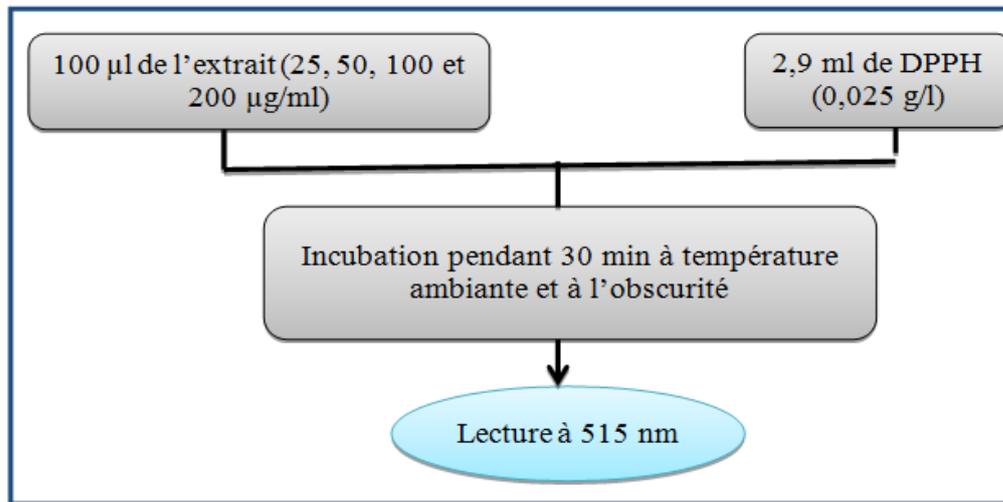


Figure : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire

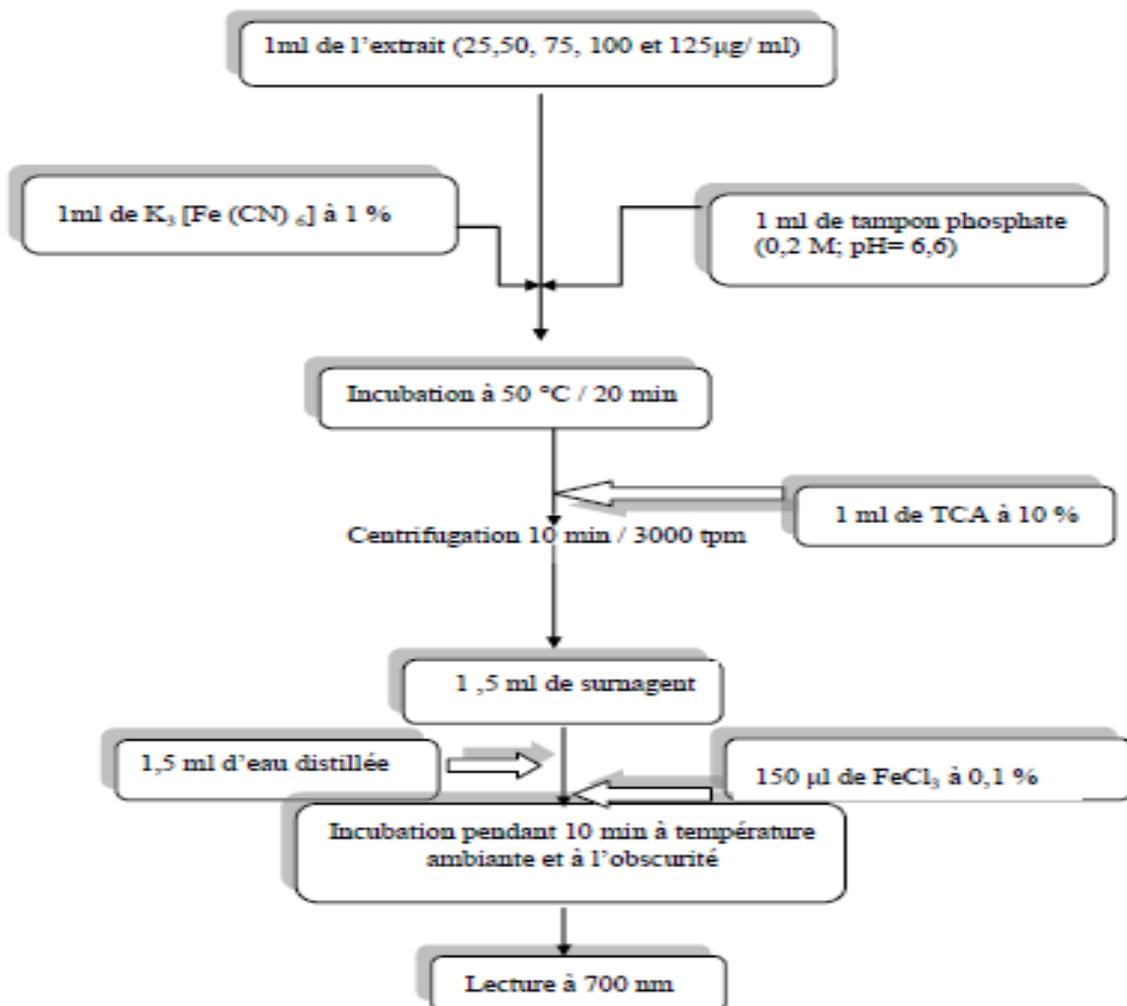


Figure : Protocole de détermination du pouvoir réducteur.

Références
Bibliographiques

-A-

Aguilar-Zárate P., Cruz-Hernández M.A., Montañez J.C., Belmares-Cerda R.E. and Aguilar C. N. (2014). Bacterial Tannases: Production, Properties and Applications Tanasas Bacterianas: Produccion, Propiedades Y Aplicaciones. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 13 (1): 63-74.

Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., and Weil J.A.(2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84: 551–562.

Asgarpanah J. and Mohajerani R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica L.* *Journal of Medicinal Plants Research*. 6 (46): 5714-5719.

-B-

Balasantaram N., Ai T.Y., Sambanthamurthi R., Sundram K. and Samman S. (2005). Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pac J Clin Nutr*. 4: 319-324.

Barbehenn R.V., Jones C.P., Lynn Yip L., Tran L. and Constabe P.C. (2007). Limited impact of elevated levels of polyphenol oxidase on tree-feeding caterpillars: assessing individual plant defenses with transgenic poplar. *Journal Plant Animal Interactions*. 154:129–140.

Beloued A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie, office de la publication universitaire. *Alger*. P: 152.

Bencheikh. (2012). Polyphénols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium. L.* and *matricaria camomilla L.*, these de magister, université de ferhat Abbase stétif. Pp 55.

Benlemlih M. et Ganame J. (2012). Polyphénols d'huile d'olive, trésors sante. France: marco pietteur. Pp : 69-77.

Bennick A. (2002). Interaction of plant polyphénols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral. Biology and Medicine*. 13(2): 184-196.

Bidie A.P., N'guessan B.B., Yapo A.F., N'guessan J.D. et Djaman A.J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Article original. Sciences & Nature*. 8 (1) : 1-11.

Boubekri C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. *Thèse doctorat en science chimique*. PP: 26

Božović M., Pirolli A. and Ragno R. (2015). *Mentha suaveolens* Ehrh. (*Lamiaceae*) Essential Oil and Its Main Constituent Piperitenone Oxide: Biological Activities and Chemistry. *Journal Molecules*. 20: 8605-8633.

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

Bruneton J. (1993). pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales -2^{ème} Edition .Lavoisier TEC et DOC, paris. Pp : 197-334.

Bruneton J. (2009), pharmacognosie phytochimie plants médicinales, 4^{ème} Edition. Lavoisier. P: 902.

-C-

Cacace J.E. et Mazza G. (2002). Extraction à l'eau sulfurée des anthocyanines et autres composés phénoliques du cassis. *Institut National de Technologie agricole. Canada.* Pp:1-16.

Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G.A., Uzunov D., Tubaro A., Menichini F. and Loggia R. D. (2008a). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 144-1151.

Cosme F., Ricardo-da-Silva J.M. and Laureano O. (2008b). Interaction between protein fining agents and proanthocyanidins in white wine. *Food Chemistry*. 6: 536-544.

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

Crémer S.K., noden D., Stilmant D. et Luxen P. (2010). Le contrôle des populations indésirables de rumex, chardons et orties dans les prairies permanentes. Ministère de la Région wallonne, Direction générale de l'Agriculture. *Livret de l'Agriculture*. 17: 57 – 63.

Croguennec T., Renault A., Beaufils S., Dubois J.J. and Pezenec S. (2007). Interfacial properties of heated ovalbumin . *Journal of Colloid and Interface Science*. 315:627-636.

-D-

Dai J., Russell J. and Mumper. (2010). Review Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *journal Molecules*. 15: 7313-7352.

Damien D.H.J., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. and Hiltunen R. (2003). Antioxidant properties and Composition of aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *Journal Agricultural of Food Chemistry*. 51: 4563-4569.

Daoudi A., Sabiri M., Bammou M., Zair T., Ibijbijen J. et Nassiri L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens L.*, *Urtica membranacea Poiret* et *Urtica pilulifera L.* *Journal of Applied Biosciences*. 87: 8094– 8104.

De Freitas V., Carvalho E. and Mateus N. (2003). Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*. 81: 503-119.

De Freitas V. and Mateus N. (2001a). Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49:940-945.

De Rijke E., Out P., Wilfried M.A., Niessen., Ariese F., Gooijer C., Udo A. and Brinkman T.H. (2006). Review Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*. 1112: 31–63.

Delattre J., Durand G. et Jardillier C. (2003). Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. *Médecine-sciences Flammarion Printed in France*. Pp: 60-80.

Delille L. (2007). Plantes médicinales D'Algérie, *BERTI EDITION*. Pp: 181-182.

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*. PP: 125.

Dinnella C., Recchia A., Fia G., Bertuccioli M. and Monteleone E. (2009). Saliva Characteristics and Individual Sensitivity to Phenolic Astringent Stimuli. Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Firenze, *Firenze, Italy Chem. Senses*. 34: 295–304.

Dixon R.A. and Paviva N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*. 7: 1085-1097.

-E-

Eagles W.P. and Wakeman R.J. (2002). Interactions between dissolved material and the fouling layer during microfiltration of model beer solution. *Journal of Membrane Science*. 206: 253-264.

Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Khalidi A. et Lemhadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*. (5): 194-203.

El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M. et Talbi M. (2003). Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Journal Acta Botanica*. 50 (3): 267-274.

El Azzouzi F. et Zidane L. (2015). La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni- Mellal (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*. 91: 8493 – 8502.

Ernest S. et Paul M. (2000). Cultures médicinales Canadienne. Conseil National de la recherche de Canada .pp :1-222.

Escribano-Baillon M.T. and Santos-Buegla C. (2001). Polyphenol extraction from foods. In Method in polyphénol analysis. *Ed. Royal Society of Chemistry*. Pp :1-16.

-F-

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray- Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Addely C. (2008). Phenolic composition of cardunculus L. organs and their biological activities. *C.R .Biologies*. 331: 272-379.

Fiorucci S., Golebiowski J., Cabrol-Bass D. and Antonczak S. (2007). DFT study of quercétine activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 55: 903-911.

Frazier R.A., Papadopoulou A., Mueller-Haevey I., Kisson D. and Green R.J. (2003). Probing proteintannin interactions by isothermal titration micrcalorimetry. *Journal of Agricultural and, Food Chemistry*. 51(518) : 5195-5189.

-G-

Gharby S., Harhar H., Bouzoubaa Z., Roudani A., Chafchaoui I., Kartah B., Materska M. and Perucka I. (2005). Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum* L). *Journal of Agricultural and, Food Chemistry* . 53: 1750-1756.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Journal Phytothérapie*. 3(4): 162-169.

Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. and Ozkan H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol

extract from *Mentha longifolia* L, ssp. *Longifolia*.. *Journal of Agricultural and, Food Chemistry* 103: 1449-1456.

Materska M. and Perucka I. (2005). Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum*. L). *Journal of Agricultural and, Food Chemistry*. 53: 1750-1756.

-H-

Hagerman A.E. and Butler L.G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agricultural and Food Chemistry*. 26(4): 809-812.

Hagerman A.E. and Butler L.G. (1981). The Specificity of Proanthocyanidin-Protein Interactions. *journal of biological Mistry*. 256(9): 4444-4497.

Hajhashemi V. and Klooshani V. (2013). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Urtica dioica* leaf extract in animal models. Avicenna. *Journal of Phytomedicine*. 3(2): 193-200.

Heilerova L., Buckova M., Tarapcik P., Silhar S. and 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. PP: 572-584.

Heim E.K., Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants; chemistry, metabolism and structure – activity relationships. *The journal of Nutritional Biochrmetry*.13: 572-584.

Huang D.J., Lin C., Chen H . J and Lin Y.H. (2004). Antioxidant and proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea botatas* L Lam Tainong 57) constituents *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45:179-186.

Hseu Y. C., Chang W. H ., Chen C. S., Liao J. W., Huang C. J., Lu F. J., Hia Y. C., Hsu H. K., WU J. J. and yang H. L. (2008). Antioxidant activities of *toona sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food and Chemical toxicology* 46: 105-114.

-J-

Jain P.K. and Joshi H. (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02 (06): 236-240.

-K-

Kothe. et Hans W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres Editions pour la version française. PP: 315.

-L-

Ladoh Yemeda C.F., Dibong S.D., Nyegue M.A., Djembissi Talla R.P., Lenta Ndjakou B., Mpondo Mpondo E., Yinyang J. et Wansi J.D. (1997). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*. 84: 7636– 7643.

Li H., Wang X., Li Y., Li P. and Wang H. (2009). Ployphenolic compounds and antioxidant properties of China wines. *Food Chemistry*. 112: 454-460.

Lieutaghi P. (1996). Le livre des bonne herbes 1ere édition. *Discoride de Vienne*. Pp:299.

-M-

Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay- Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolismes secondaire d'importance économiques .presses polytechniques et universitaires Romandes. Pp: 88-161.

Madi A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de quelque plantes médicinales et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister, *Université Mentouri Constantine*. Pp: 65.

Mahboubi M. et Kazempour N. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Satureja hortensis and Trachyspermum copticum essential oil. Iranian. *Journal of Microbiology* .3 (4): 194–200.

Makkar H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannin, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin rich feeds. *Small ruminant Research*. 49:241-246.

Manach C., Scalbert A., Morand C. and Jimenz L. (2004). Polyphénols: Food sources and biovaibility. American. *Journal of Clinical Nutrition*. Pp 79: 727-747.

McRae M J.N. and Kennedy A.J. (2011). Wine and Grape Tannin Interactions with Salivary Proteins and Their Impact on Astringency: A Review of Current Research. *Review Molecules*.16: 2348-2364.

Mehanso H., Butler L.G. and Carlson D.M. (1987). Dietary tannins and salivary proline rich proteins: Interactin, induction and defense mechanisms. *Annual Review of Nutrition*. 7: 423-440.

Mehinagic E., Bourles E. et Jourjon F. (2011). Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*. 43 (6) : 364–368.

Mine Y., Noutomi T. and Haga N (1991). Emulsifying and structural properties of albumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39:443-446.

-N-

Nacz M. and Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal Chromatography A*. 1054 : 95-111.

Nacz M., Grant S., Zadernowski R. and Barre E. (2006). Protein precipitating capacity of phenolics of wild blueberry leaves and fruits. *Food Chemistry*. **96: 640-647.**

Naimi F., Bousta D., Balouiri M. and EL Meskaoui A. (2015). Antioxidant and free radical-scavenging properties of seeds flavonoids extract of *Cedrus atlantica* Manetti, *Linum usitatissimum* L. and *Ocimum basilicum* L. species. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5 (08): 095-099.

Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D.E., Boelens P.G., Norren K. and Leeuwen P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74: 418-425.

-O-

Owen P.L. and Johns T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 64: 149-160.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307–315.

-P-

Pandey K.B. and Rizvi S.I. (2010). Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. *Oxide Med Cell Longev*. 3 (1): 2-12.

Poncet-Legrand C., Edelmann A., Putaux J.L., Cartalade D., Sarini-Manchado P. and Vernhet A. (2006). Poly (L-proline) interactions with flavan-3-ols units: Influence of the molecular structure and the polyphénols/proteions. *Food Hydrocolloids*. 20: 687-697.

Popovici C., Saykova I. et Bartek B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4: 25-39.

Prigent S. (2005). Interaction of phenolic compounds with globular proteins and their effects on food-related functional properties. *Thèse de doctorat en Agrobiotechnologie*. Pp : 89-105.

-R-

Ranalli A., Contento S., Lucera L., Di Febo M., Marchegiani D. and Di Fonzo. (2006). Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea Europaea L.*). *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 54 : 434-440.

Rawel H.M., Czajka D., Rohn S. and Kroll J. (2002). Interactions of different Phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*. 30 (34) : 137-150.

Rawel H.M., Meidtner K. and Kroll J. (2005). Binding of selected Phenolic compounds to proteins. *Agricultural and Food Chemistry* 53 : 4228-4235.

Ribeiro S.M.R., Barbosa., L.C.A., Queiroz J.H., Kunoler, M. and 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. PP : 317-436.

Richard T., Lefeuvre D., Descendit A., Quideau S. and Monti J.P. (2006). Recognitio characters in peptide-polyphenol complex formation. *Biochimica et Biophysica Acta*.1760 : 951-958.

Richter G. (1993). Métabolismes des végétaux, physiologie et biochimie. Ed: *Press Romande (Paris)*. P : 317-328.

Rodriguez-Meizoso I., Marin F.R., Herrero M., SenoransF.J.,RegleroG., Cifuentes A. and Ibanez E. (2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from

organo. Chemical and functional characterization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1560-1565.

- S-

Sainvitu P., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.P., Paquot M. et Deleu M. (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol. *review. Biotechnol. Agronomy. Social. Enviroment. 16(1) : 115-124.*

Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Int. Journal of Food Science Tech.* 8 : 121-137.

Santos-Buelga C. and Scalbert A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 80 : 1094-1117.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Lavoisier 75008,* Paris .PP : 45-289

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 30: 3875-3883.

Scherer R. and Godoy H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry.* 112 : 654-658.

Sell Y., Bénézra C. et Guérin B. (2002). Plantes et rections, cutanées Eurotext et Allerbio 1^{ère} édition. PP: 120.

Sereme A.J., Millogo-Rasolodimby S., Guinko M. and Nacro. (2010). Anatomy and Tannins Concentration in Tannins Producing species of Burkina Faso. *Journal Des Sciences.* 10 : 24 – 32.

Sharififar F., Dehghn-Nudeh G. and Mirtajaldini M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium L.* *Food. Chemistry.* 112 : 885-888.

Siebert K.J., Troukhanova N.V. and Lynn P.Y. (1996). Nature of polyphénols-protein interactions. *Journal of agricultur Food Chemistry.* 44 : 80-85.

Simon C. (2003). Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tannins du vin de Bordeaux *Thèse doctorat en science chimique .PP : 20-34.*

Skaria B.P., Joy P.P., Mathew S., Joseph A. et Joseph R. (2007). Aromatic Plants New India Publishinga Agency, Pitam Pura, *New Delhi.* PP: 17-35.

Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 531-537.

Sundar Ghosh K., Ketan Sahoo B. and Dasgupta S. (2008). Spectrophotometric studies on the interaction between (-)-epigallocatechin gallate and lysozyme. *Chemical Physics Letters*. Article in press.

-T-

Tapas A.R., Sakarkar D.M. and Kakde R.B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 7 (3): 1089-1099.

Tawaha K., Alali F.Q., Garaibeh M. and El-elimat T.(2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Journal of Agricultural and, Food Chemistry*. 104 : 1372-1378.

Taylor K. (2009). Biological Flora of the British Isles: *Urtica dioica* L. *Journal of Ecology*. 97: 1436–1458.

Tirelli A. and De Noni I. (2007). Evaluation of lysozyme stability in young red wine and model systems by a validated HPLC method. *Journal of Agricultural and, Food Chemistry*. 105: 1564-1570.

Tiziani S., Schwartz S.J. and Vodovotz Y. (2008). Intermolecular interactions in phytochemical model systems studied by NMR diffusion measurement. *Journal of Agricultural and, Food Chemistry*. 107: 962-969.

Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols *Journal of Nutrients*. 2 : 1231-1246.

-V-

Vergé S., Richard T., Moreau S., Nurich A., Mreillon J.M., Vercauteren J. and Monti J.P.(2002). First observation of solution structures of bradykinin-penta-o-galloyl-d-glucopyranose complexes as determined by NMR and simulated annealing. *Biochimicaet Biophysica Acta*. 1571: 89-101.

-X-

Xu L. and Diosady L.L. (2002). Removal of Phenolic compounds in the production of high-quality canola protein isolates. *Food Research International*. 35: 23-30.

-Y-

Yan Q. and Bennic k.A. (1995).Identification of histamine as tannin-binding proteins in human saliva. *Biochemical Journal*. 311: 341-347.

Réalisé par :

-AISSOUS Widad
- BOULTIF Faiza

Jury :

Présidente : Dr. DERAÏ

Examinatrice : M^{me}. ABBES

Encadreur : M^{me} BOUTENNOUN Hanane

Etude phytochimique et activité antioxydante de deux plantes médicinales de la région de Jijel**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 *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica* sont étudiés pour leurs teneur en différents composés phénoliques, leur activité antioxydant et leur pouvoire d'interagir avec la protéine d'OVB. Le rendement d'extraction de *Mentha rotundifolia* était le plus important avec un pourcentage de 13,04%. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoides par des méthodes colorimétriques a montré que l'extrait de *Mentha rotundifolia* est le plus riche en ces composés (745,66 mg EAG/g et 102,5 mg EAQ/g respectivement). Par contre, *Urtica dioica* contient la teneur la plus élevée en tannins (12,18mg EAT/g). L'évaluation du pouvoire antioxydant qui a été réalisé en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer FRAP, a indiqué que les deux extraits méthanoliques ont une activité antioxydante intéressante qui est en relation avec les teneurs en composés phénoliques et en flavonoides. Plusieurs facteurs semblent gouverner l'interaction polyphénols protéine, à savoir la concentration des polyphénols et de la protéine. Une température inférieure à 25°C n'a aucun effet sur la formation des complexes polyphénols-protéines; au-delà les interactions se renforcent dans le cas où la protéine n'est pas dénaturée.

Mots clés : *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, antioxydant, polyphénols, OVB.

Abstract

Recently, interest in medicinal plants increased mainly due to their health-promoting properties. In this study, methanolic extracts from *Mentha rotundifolia* and *Urtica dioica* were evaluated for their different phenol contents, their antioxidant activity and interaction with OVB protein. *Mentha rotundifolia* expresses the highest percentage of extraction yield with 13.04%. The quantitative estimation of total phenol and flavonoid content, by a colorimetric assays showed that the extracts of *Mentha rotundifolia* is the most rich in these components (745, 66 mg EAG /g and 102.5 mg EAQ / g, respectively). On the contrary, *Urtica dioica* contains the most amount of tannin (12, 18 mg EAT / g). Assessment of the *in vitro* antioxidant activity using the method of trapping the free radical DPPH and the reductive power FRAP showed that our methanolic extracts have an interesting antioxidant activity which is related to polyphenols and flavonoids contents. Several factors seem to control the interaction polyphenols-proteins, namely the concentration of polyphenols and protein. A temperature lower than 25 °C has no effect on the formation on the complex phenol-protein, beyond the interaction are reinforced in the case the protein is not denatured

Keywords: *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, antioxidant, polyphenols, OVB.

ملخص

في الأونة الأخيرة, ارتفع الاهتمام بالنباتات الطبية نظرا للخصائص الصحية التي تتمتع بها. هذه الدراسة سمحت بتقييم فعالية المستخلصات الميثانولية لكل من *Mentha rotundifolia* و *Urtica dioica* من حيث كمية احتوائها على مختلف المركبات الفينولية, مدى نشاطها المضاد للاكسدة و مدى تفاعلها مع بروتين بياض البيض. كان مردود استخلاص *Mentha rotundifolia* هو الأكبر بنسبة 13.04%. التقدير الكمي للمركبات الفينولية الاجمالية و الفلافونويدات باستعمال الاساليب اللونية اثبتت ان مستخلص النبتة *Mentha rotundifolia* هو الاغني من حيث هذه المركبات, بالمقابل النبتة *Urtica dioica* هي التي تحوي اكبر نسبة من الدباغ. قيمت فعالية المستخلصات الميثانولية ضد الاكسدة باستعمال النشاط المضاد للجذور الحرة و قدرة ارجاع الحديد حيث أظهرت المستخلصات الميثانولية للنبتين فعالية جد معتبرة ضد الاكسدة توافق مكوناتها الفينولية. هناك عوامل كثيرة تتحكم في تفاعل المركبات الفينولية مع بروتين بياض البيض مثل قوة تركيز المستخلص و البروتين أما فيما يخص تأثير درجة الحرارة فانه منعدم في اقل من 25 °م وابتداء من هذه الدرجة يبدأ نشاط التفاعلات إلى أن يتخثر البروتين.

الكلمات المفتاحية *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, مضاد للاكسدة, المركبات الفينولية, بروتين بياض البيض.

Réalisé par :

-AISSOUS Widad
- BOULTIF Faiza

Jury :

Présidente : M^{me} ABBES .A

Examinatrice : M^{me} ABBES .A

Encadreur : M^{me} BOUTENNOUN Hanane

Etude phytochimique et activité antioxydante de deux plantes médicinales de la région de Jijel**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 *Mentha rotundifolia* et *Urtica dioica* sont étudiés pour leurs teneur en différents composés phénoliques, leur activité antioxydant et leur pouvoir d'interagir avec la protéine d'OVB. Le rendement d'extraction de *Mentha rotundifolia* était le plus important avec un pourcentage de 13,04%. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoides par des méthodes colorimétriques a montré que l'extrait de *Mentha rotundifolia* est le plus riche en ces composés (745,66 mg EAG/g et 102,5 mg EAQ/g respectivement). Par contre, *Urtica dioica* contient la teneur la plus élevée en tannins (12,18mg EAT/g). L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisé en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer FRAP, a indiqué que les deux extraits méthanoliques ont une activité antioxydante intéressante qui est en relation avec les teneurs en composés phénoliques et en flavonoides. Plusieurs facteurs semblent gouverner l'interaction polyphénols protéine, à savoir la concentration des polyphénols et de la protéine. Une température inférieure à 25°C n'a aucun effet sur la formation des complexes polyphénols-protéines; au-delà les interactions se renforcent dans le cas où la protéine n'est pas dénaturée.

Mots clés : *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, antioxydant, polyphénols, OVB.

Abstract

Recently, interest in medicinal plants increased mainly due to their health-promoting properties. In this study, methanolic extracts from *Mentha rotundifolia* and *Urtica dioica* were evaluated for their different phenol contents, their antioxidant activity and interaction with OVB protein. *Mentha rotundifolia* expresses the highest percentage of extraction yield with 13.04%. The quantitative estimation of total phenol and flavonoid content, by a colorimetric assays showed that the extracts of *Mentha rotundifolia* is the most rich in these components (745, 66 mgEAG /g and 102.5 mg EAQ / g, respectively). On the contrary, *Urtica dioica* contains the most amount of tannin (12, 18 mg EAT / g). Assessment of the *in vitro* antioxidant activity using the method of trapping the free radical DPPH and the reductive power FRAP showed that our methanolic extracts have an interesting antioxidant activity which is related to polyphenols and flavonoids contents. Several factors seem to control the interaction polyphenols-proteins, namely the concentration of polyphenols and protein. A temperature lower than 25 °C has no effect on the formation on the complex phenol-protein, beyond the interaction are reinforced in the case the protein is not denatured

Keywords: *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, antioxidant, polyphenols, OVB.

ملخص

في الأونة الأخيرة، ارتفع الاهتمام بالنباتات الطبية نظرا للخصائص الصحية التي تتمتع بها. هذه الدراسة سمحت بتقييم فعالية المستخلصات الميثانولية لكل من *Mentha rotundifolia* و *Urtica dioica* من حيث كمية احتوائها على مختلف المركبات الفينولية، مدى نشاطها المضاد للاكسدة و مدى تفاعلها مع بروتين بياض البيض. كان مردود استخلاص *Mentha rotundifolia* هو الأكبر بنسبة 13.04%. التقدير الكمي للمركبات الفينولية الاجمالية و الفلافونويدات باستعمال الاساليب اللونية اثبتت ان مستخلص النبتة *Mentha rotundifolia* هو الاغني من حيث هذه المركبات، بالمقابل النبتة *Urtica dioica* هي التي تحوي اكبر نسبة من الدباغ. قيمت فعالية المستخلصات الميثانولية ضد الاكسدة باستعمال النشاط المضاد للجذور الحرة و قدرة ارجاع الحديد حيث أظهرت المستخلصات الميثانولية للنبتين فعالية جد معتبرة ضد الاكسدة توافق مكوناتها الفينولية. هناك عوامل كثيرة تتحكم في تفاعل المركبات الفينولية مع بروتين بياض البيض مثل قوة تركيز المستخلص و البروتين أما فيما يخص تأثير درجة الحرارة فانه منعدم في اقل من 25 م° و ابتداء من هذه الدرجة يبدأ نشاط التفاعلات إلى أن يتخثر البروتين.

الكلمات المفتاحية *Mentha rotundifolia*, *Urtica dioica*, مضاد للاكسدة, المركبات الفينولية, بروتين بياض البيض.