



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N° série:

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Contribution à l'étude phytochimique et l'activité biologique  
des extraits de *Matthiola livida* DC. de la région d'Oued Souf**

#### Présentés Par :

M<sup>elle</sup> BEKKOUCHE Aicha

M<sup>elle</sup> SEGHAIER Salima

#### Devant le jury composé de :

<b>Président:</b>	Mr. KHELEF Yahia	M.A.A	Université d'El Oued
<b>Examineur:</b>	Mr. TLILI Mohammed Laid	M.A.A	Université d'El Oued
<b>Promoteur :</b>	Dr. CHOUIKH Atef	M.C.A	Université d'El Oued

Année universitaire 2019/2020



# *Dédicaces*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui nous tracé le chemin de nos vie,  
nous avons pu réaliser ce travail que nous avons dédié :*

*A nos **chères mères** qui sont la lumière de nos yeux, l'ombre de nos pas et le  
bonheur de notre vie, qui ont apporté leur appui durant toutes nos années d'étude  
et pour leur sacrifice et leur soutien .*

*A nos **chers pères** qui nous ont guidés et nous ont appris les secrets de la vie.*

*A nos chers frères.*

*A nos sœurs et tous nos chères.*

*A nos enseignants qui nous ont suivi tout au long de nos cursus universitaire.*

*A tous nos collègues de la promotion 2020 de Biochimie Appliquée.*



*Aicha & Salima*

# Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant pour nous avoir aidé à réaliser ce modeste travail.*

*C'est avec un réel plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.*

*Nous tenons tout d'abord à remercier : **Dr CHOUIKH ATEF**, qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous la remercions pour son sérieux et ses efforts Afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr KHELEF Yahia** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à **Mr TLILI Mohammed Laid** d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à lui exprimer notre grand respect.*

*Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail en particulier M<sup>elle</sup> ALIA.F, tous les travailleurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED.*

*Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie*

*A toute personne ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.*

*Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.*

## Résumé

Afin de valoriser les plantes sahariennes, ce travail a été mené pour faire une étude phytochimique et l'activité biologique (antioxydante et anti-inflammatoire) des extraits bruts de la partie aérienne de *Matthiola livida* DC. qu'il est développé dans la zone d'Oued-Souf.

Les résultats de la teneur en métabolites primaires montrent que les glucides sont les constituants majeurs avec une valeur de  $35.70 \pm 0.025$  mg/g de poids sec par rapport de protéines et lipides. L'extraction par la méthode de macération a été donnée trois extraits bruts méthanolique, éthanolique et aqueux où ce dernier enregistre le rendement le plus élevé (14.61%). La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts est comprise entre (170.82 et 102.42 mg EAG/g Extrait), et le dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait éthanolique possède la plus haute teneur estimée en ( $97.03 \pm 4.14$  mg E Qu /g Extrait).

L'activité antioxydante des extraits bruts a été évaluée par le test de DPPH<sup>•</sup> et le test d'hémolyse. Les résultats du DPPH<sup>•</sup> montrent que l'extrait méthanolique était supérieur au reste des extraits avec une valeur d'IC<sub>50</sub>= 153.56 µg/ml mais en test d'hémolyse, l'extrait éthanolique donnait la meilleure protection de érythrocytes humains (16.93% d'érythrocytes dissous chez la concentration 1 mg/ml).

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts est testée par la méthode de l'inhibition de dénaturation des protéines où la valeur la plus élevée obtenue chez l'extrait éthanolique ( $11.29 \pm 1.10$  mg diclofénac E/mg Extrait). L'analyse par spectroscopie IR permet de déterminer les fonctions chimiques on peut trouver dans nos extraits bruts comme des groupes hydroxyles (O-H), Carbonyle (C=O), liaison (C-H), (C=C) et (C-H).

**Mots clés:** *Matthiola livida* DC.; Extraits bruts; Polyphénols totaux; Flavonoïdes; Activité antioxydante; Activité anti-inflammatoire.

## الملخص

قصد تعزيز ودراسة النباتات الصحراوية، تم تنفيذ هذا العمل والذي يهدف الي دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية (المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات) للمستخلصات الخامة من الجزء الهوائي لنبات الشقارة *Matthiol livida DC.* النامي في منطقة واد سوف.

تظهر نتائج محتوى المستقلبات الأولية أن الكربوهيدرات هي المكونات الرئيسية بقيمة قدرت بـ  $35.70 \pm 0.025$  ملغ / غ من الوزن الجاف مقارنة بالبروتينات والدهون. أعطت عملية الاستخلاص بطريقة النقع ثلاث مستخلصات خامة (الميثانولي، الإيثانولي والمائي) حيث سجل المستخلص المائي أعلى مردود (14.61%). أما محتوى عديدات الفينول الكلي تراوح بين (170.82 و 102.42 ملغ مكافئ من حمض الغاليك / غ من المستخلص)، أما عند الفلافونويدات فأظهر المستخلص الإيثانولي أعلى قيمة قدرت بـ ( $4.14 \pm 97.03$  ملغ مكافئ من الكرسيتين / غ من المستخلص).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات من خلال اختبار DPPH واختبار انحلال كريات الدم الحمراء. أظهرت نتائج DPPH أن مستخلص الميثانول كان متفوقاً على باقي المستخلصات بقيمة لـ ( $IC_{50} = 153.56$  ميكروغرام / مل) ولكن في اختبار انحلال الدم، أعطى المستخلص الإيثانولي أفضل حماية لخلايا الدم الحمراء البشرية (16.93% كريات الدم الحمراء المنحلة عند التركيز 1 ملغ/مل).

أما عند إختبار النشاط المضاد للالتهابات مخبرياً بطريقة تثبيط تمسخ البروتين أعطى المستخلص الإيثانولي أحسن القيم قدرت بـ ( $11.29 \pm 1.10$  ملغ مكافئ من ديكلوفيناك/ملغ من المستخلص). أتاح التحليل الطيفي بواسطة الأشعة تحت الحمراء تحديد الوظائف الكيميائية في المستخلصات على غرار المجموعات الوظيفية هيدروكسيل (O-H)، كربونيل (C=O)، الرابطة (C-H)، (C=C) و (C-H).

**الكلمات المفتاحية:** *Matthiola livida DC.*؛ المستخلصات الخامة؛ عديدات الفينول؛ الفلافونويدات؛ النشاطية المضادة للأكسدة؛ النشاطية المضادة للالتهابات.

## Summary

In order to evaluate Saharan plants, we conducted this work, which is based on a phytochemical study, and the biological activity (antioxidant and anti-inflammatory) of crude extracts from the aerial part of *Matthiola livida* DC. which is growing in Oued-Souf region.

The results of the content of primary metabolites show that carbohydrates are the major constituents with a value  $35.70 \pm 0.025$  mg/g dry weight relative to proteins and lipids. The extraction by the maceration method was given three crude methanolic, ethanolic and aqueous extracts where the latter recorded the highest yield (14.61%). The content of total polyphenols is (between 170.82 and 102.42 mg EGA/g Extract) and in the flavonoids revealed that the ethanol extract has the highest content ( $97.03 \pm 4.14$  mg E Qu/g Extract).

The antioxidant activity of the crude extracts was evaluated by two tests DPPH• test and the hemolysis test. The results of the DPPH• show that the methanolic extract was superior to the rest of the extracts with a value of ( $IC_{50} = 153.56$   $\mu$ g/ml) but on the hemolysis test, the ethanolic extract gave the best protection of human erythrocytes (16.93% hemolysis at the concentration 1 mg/ml).

The anti-inflammatory activity *in vitro* is tested by the method of inhibition of protein denaturation, where the highest values obtained in the ethanol extract ( $11.29 \pm 1.10$  mg E diclofenac/mg Extract). Finally the analysis by IR spectroscopy allows us to determine the chemical functions such as groups hydroxyl (O-H), Carbonyl (C = O), bond (C-H), (C = C) and (C-H).

**Keywords:** *Matthiola livida* DC.; Crude extracts; Total Polyphenols; Flavonoids; Antioxidant activity; Anti-inflammatory activity.

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**Ac** : Absorbance du contrôle

**AG** : Acide gallique

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium

**At** : Absorbance de l'échantillon

**cm** : Centimètre

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre

**E** : Extrait

**EDTA** : Éthylène diamine tetra-acétique

**DPPH<sup>•</sup>** : 2,2-diphényl -1-picryl hydrazyl

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer

**g** : Gramme

**h** : Heure

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène

**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PO** : Acide phosphorique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungstique

**I %** : Pourcentage d'inhibition

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50% du radical DPPH

**IR** : Infra Rouge

**min** : Minutes

**mg** : Milligramme

**mg E AG/g Ex**: Milligramme d'équivalent en acide gallique par gramme de l'extrait brut

**mg Ed/mg Ex**: Milligramme équivalent de diclofénac de sodium par milligramme d'extrait

**mg E Qu /g Ex** : Milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait brut

**ml** : Millimètre

**Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : Molybdène

**N** : Normalité

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**nm** : Nanomètre

**OH** : Groupement hydroxyle

**PEB** : Poids de l'extrait brut

**PMV** : Poids de matière végétale

**PPT** : Polyphénols totaux

**PS** : Poids sec

**R** : Rendement

**TCA** : Acide trichloracétique

**BSA** : Sérum bovine albumine

**µg**: Microgramme

**UV**: Ultra-Violet

**V**: Volume

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>**: Oxyde de tungstène

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>Figure 1</b>	<i>Matthiola livida</i> DC.	<b>7</b>
<b>Figure 2</b>	Distribution de <i>Matthiola Livida</i> DC.	<b>8</b>
<b>Figure 3</b>	Structure de base des polyphénols	<b>13</b>
<b>Figure 4</b>	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	<b>14</b>
<b>Figure 5</b>	Effets biologiques des polyphénols	<b>15</b>
<b>Figure 6</b>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>18</b>
<b>Figure 7</b>	Structure générale de tanins hydrolysable	<b>21</b>
<b>Figure 8</b>	Structure des tanins condensés et leur monomère	<b>22</b>
<b>Figure 9</b>	Structure générale de la coumarine	<b>23</b>
<b>Figure 10</b>	Structure de la molécule d'isoprène	<b>24</b>
<b>Figure 11</b>	Quelques exemples des alcaloïdes	<b>27</b>
<b>Figure 12</b>	Principales étapes d'extraction des métabolites	<b>32</b>
<b>Figure 13</b>	Courbe d'étalonnage de glucose	<b>33</b>
<b>Figure 14</b>	Courbe d'étalonnage de BSA	<b>35</b>
<b>Figure 15</b>	Courbe d'étalonnage d'huile de soja	<b>36</b>
<b>Figure 16</b>	Protocole d'extraction des extraits bruts	<b>38</b>
<b>Figure 17</b>	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	<b>40</b>
<b>Figure 18</b>	Courbe d'étalonnage de quercétine	<b>41</b>
<b>Figure 19</b>	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH	<b>42</b>

<b>Figure 20</b>	Courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium	<b>45</b>
<b>Figure 21</b>	Teneurs en glucides, protéines et lipides de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>48</b>
<b>Figure 22</b>	Rendement d'extraction des différents extraits en %	<b>49</b>
<b>Figure 23</b>	Teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>50</b>
<b>Figure 24</b>	Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits bruts de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>51</b>
<b>Figure 25</b>	Les valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits bruts de <i>Matthiola livida</i> DC. et d'acide ascorbique	<b>54</b>
<b>Figure 26</b>	Courbe standard de l'acide ascorbique dans le test d'hémolyse	<b>56</b>
<b>Figure 27</b>	Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>56</b>
<b>Figure 28</b>	Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>57</b>
<b>Figure 29</b>	Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>57</b>
<b>Figure 30</b>	Pourcentages d'hémolyse des extraits bruts de <i>Matthiola livida</i> DC. et l'acide ascorbique à la concentration de 1mg/ml	<b>58</b>
<b>Figure 31</b>	Quantité d'inhibition de la dénaturation de sérum bovine albumine (BSA)	<b>60</b>
<b>Figure 32</b>	Spectre d'IR d'extrait méthanolique de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>63</b>
<b>Figure 33</b>	Spectre d'IR d'extrait éthanolique de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>63</b>
<b>Figure 34</b>	Spectre d'IR d'extrait aqueux de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>64</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau 1</b>	La position systématique de <i>Matthiola Livida</i> DC	<b>6</b>
<b>Tableau 2</b>	Les principales classes de composants phénoliques	<b>16</b>
<b>Tableau 3</b>	Exemples de dérivés d'acide hydroxybenzoïque	<b>17</b>
<b>Tableau 4</b>	Exemples de dérivés de l'acide hydroxycinnamique	<b>18</b>
<b>Tableau 5</b>	Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples	<b>19</b>
<b>Tableau 6</b>	Classification des terpénoïdes	<b>25</b>
<b>Tableau 7</b>	Le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) entre les différentes variables étudiées	<b>61</b>
<b>Tableau 8</b>	Interprétation des spectres d'IR des extraits bruts de <i>Matthiola livida</i> DC.	<b>64</b>

## Sommaire

<b>Dédicaces</b>
<b>Remerciements</b>
<b>Résumé</b>
<b>Liste des abréviations</b>
<b>Liste des figures</b>
<b>Liste des tableaux</b>

Introduction.....	1
-------------------	---

### Première partie : synthèse bibliographique

#### Chapitre I. Généralités sur la plante *Matthiola livida* DC.

I.1. Famille des Brassicaceae .....	5
I.2. Espèce <i>Matthiola livida</i> DC .....	5
I.3. Classification de la plante .....	6
I.4. Description botanique de <i>Matthiola livida</i> DC. ....	7
I.5. Distribution .....	8
I.6. Utilisation traditionnel.....	8
I.7. Etudes antérieurs .....	8

#### Chapitre II. Métabolites secondaires

II.1. Généralité .....	8
II.2. Définition .....	11
II.3. Distribution et localisation .....	11
II.4. Biosynthèse .....	12
II.5. Rôle biologique .....	12
II.6. Classification des métabolites secondaires.....	12
II.6.1. Polyphénols .....	12
II.6.1.1. Généralité .....	12
II.6.1.2. Structure chimique .....	13
II.6.1.3. Biosynthèse des polyphénols .....	13
II.6.1.4. Propriétés biologiques .....	14
II.6.1.5. Classification des polyphénols .....	15

II.6.1.5.1. Phénols simples .....	16
II.6.1.5.2. Acides phénoliques .....	17
II.6.1.5.3. Flavonoïdes .....	18
II.6.1.5.3.1. Généralité .....	18
II.6.1.5.3.2. Classification .....	19
II.6.1.5.3.3. Propriété biologique des flavonoïdes .....	20
II.6.1.5.4. Tanins .....	20
II.6.1.5.4.1. Généralité .....	20
II.6.1.5.4.2. Classification.....	20
II.6.1.5.4.3. Propriétés des tanins.....	22
II.6.1.5.5. Les coumarines .....	22
II.6.2. Terpènes .....	23
II.6.2.1. Généralité.....	23
II.6.2.2. Répartition et localisation .....	24
II.6.2.3. Activités biologiques.....	24
II.6.2.4. Classification des terpénoïdes.....	24
II.6.3. Alcaloïdes.....	25
II.6.3.1. Généralité .....	25
II.6.3.2. Biosynthèse des alcaloïdes .....	26
II.6.3.3. Distribution et localisation .....	26
II.6.3.4. Classification des alcaloïdes .....	26
II.6.3.5. Intérêts des alcaloïdes .....	27

## Deuxième partie : Etudes expérimentales

### Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal .....	31
I.2. Méthodes d'étude .....	31
I.2.1. Dosage des métabolites primaires (glucides, protéines et lipides) .....	31
I.2.1.1. Préparation de l'extrait .....	31
I.2.1.2. Dosage des glucides.....	33
I.2.1.3. Dosage des protéines.....	33
I.2.1.4. Dosage des lipides.....	35
I.2.2. Méthode d'extraction.....	36
I.2.2.1. Préparation des extraits bruts.....	36
I.2.2.2. Détermination de rendement .....	39
I.2.3. Analyse quantitative des composées phénoliques .....	39
I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT) .....	39
I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	40
I.2.4. Activités biologiques .....	41

I.2.4.1. Activité antioxydante .....	41
I.2.4.1.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH) .....	41
I.2.4.1.2. Test d'hémolyse .....	43
I.2.4.2. Activité anti-inflammatoire .....	44
I.2.5. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge (IR) .....	45
I.2.6. Analyse statistique.....	46

## **Chapitre II. Résultats et Discussion**

II.1. Dosage des métabolites primaires .....	48
II.2. Rendements des extraits bruts .....	49
II.3. Analyse quantitative des composés phénoliques .....	50
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT) .....	50
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	51
II.4. Activités biologiques.....	53
II.4.1. Activité antioxydante .....	53
II.4.1.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH).....	53
II.4.1.2. Test d'hémolyse .....	55
II.4.2. Activité anti-inflammatoire .....	60
II.5. Etude statistique .....	61
II.6. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge (IR) .....	63
Conclusion.....	67
Références bibliographiques .....	70
Annexes	

# **Introduction**

## Introduction

---

Le Sahara algérien est constitué de 500 espèces végétales, dont on dénombre 162 espèces endémiques dans le Sahara seul et à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Plusieurs de ces espèces sont connues par leurs propriétés thérapeutiques remarquables (**Fellous, 2003**).

L'exploitation très vaste des plantes spontanées depuis des siècles par l'homme pour traiter les différentes pathologies courantes ont poussé les chercheurs à étudier les activités pharmacologiques des différents métabolites végétaux. Ces études ont pour but d'une part, de confirmer les propriétés thérapeutiques et d'autre part l'identification des principes actifs à l'origine de vertus attribuées aux plantes (**Tili, 2015**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Hadri, 2016**).

D'autre part, l'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires; ils sont également utilisés comme additifs en

Cette étude s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine traditionnel, elle est alentour l'étude phytochimique et l'activité biologique d'une plante saharienne (*Matthiola livida* DC.) qui pousse dans la région d'Oued Souf. Cette plante appartient à la famille des Brassicaceae.

Notre travail s'articule autour de l'étude phytochimique de cette plante ainsi que sur l'évaluation *in vitro* de activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits brutes (méthanolique, éthanolique et aqueux).

## **Introduction**

---

Cette étude comporte deux parties:

La première partie est consacré à une synthèse bibliographique, qui constitué de deux chapitres l'un sur la présentation de la plante étudiée (*Matthiola livida* DC.) et la famille Brassicaceae et l'autre sur les métabolismes secondaires.

La deuxième partie est expérimentale, subdivisée en deux chapitres l'un présente les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre on a traité les résultats obtenus et la discussion. Enfin on termine par une conclusion.

# **Première partie**

## **Synthèse**

## **bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Généralités sur la plante**

***Matthiola livida* DC.**

### I.1. Famille des Brassicaceae

La Brassicacées (latin Brassicaceae) est l'une des familles de plantes les plus diverses, comprenant environ 419 genres et 4130 espèces (**Leurquin, 2008**), elle est une grande famille naturelle largement distribués dans le monde (**El-Rabiai, 2015**). C'est l'une des familles d'angiospermes les plus importantes en raison de son importance agronomique et scientifique. De nombreuses études phylogénétiques moléculaires à l'échelle de la famille ont été publiées au cours de la dernière décennie (**Özüdogru et al., 2015**). Anciennement, connue sous le nom de "Crucifères" (latin Cruciferae) (**Boue et al., 2013**) pour leur corolle de 4 pétales disposés en croix c'est-à-dire les quatre pétales donnent à la fleur une forme de croix (**Turcati, 2014**). Aussi, grâce à leur morphologie homogène, plus particulièrement la forme de leurs fleurs et la structure de leurs fruits, facilement reconnaissables (**Kozlowski et al., 2009**).

Cette famille est très importante autant par le nombre d'espèces qu'elle regroupe que par l'importance économique de plusieurs de ses espèces (**Berreguioua, 2016**). En effet, de nombreuses espèces sont utilisées comme plantes alimentaires, condiments, beaucoup de plantes ornementales et d'autres sont employées comme sources industrielles des huiles végétales (**Smadi, 2006**), très utilisées en médecine traditionnelle marocaine. D'autres espèces sont utilisées par voie interne comme réchauffant. En médecine traditionnelle chinoise, ils utilisent pour soulager les fièvres et pour traiter les maladies cardiaques. Au sud Algérien, On indique pour traiter les maladies de la peau en usage externe, sous forme de pâte; au Maroc, elle est utilisée dans le traitement des maladies de l'intestin (**Berreguioua, 2016**).

Aujourd'hui, la famille des Brassicacées a une répartition cosmopolite (**Kozlowski et al., 2009**) en Algérie, il y'a deux cent (200) espèces (**Berghioua et al., 2009**), parmi les plantes sauvages trouvées dans cette famille dans la région de l'El Oued Souf se trouve *Matthiola livida* DC. (2005، حليس).

### I.2. Espèce *Matthiola livida* DC.

Le genre *Matthiola* est distribué en Afrique, en Europe et en Asie. Ce genre est représenté par environ 50 espèces dans le monde (**Martin et al., 2013**). Parmi eux *Matthiola longipetala* (Vent.) DC. Ce dernière espèce est divisée en plusieurs sous-espèces. Parmi eux on a le subsp. *Livida* (Delile) Maire. (**Marzouk et al., 2008**).

## I.3. Classification de la plante

La classification de *Matthiola Livida* DC. est la suivante (tableau 1).

**Tableau 1** : La position systématique de *Matthiola Livida* DC. (Quézel et Santa, 1962; Berghioua *et al.*, 2009)

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Division</b>	Spermaphyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Dilleniidae
<b>Ordre</b>	Capparales
<b>Famille</b>	Brassicaceae
<b>Genre</b>	Matthiola
<b>Espèce</b>	<i>Matthiola longipetala</i>
<b>Sous-espèce</b>	<i>Matthiola longipetala</i> ssp. <i>Livida</i> (Delile.) Maire.
<b>Nom commun</b>	Chegara

**Synonymes:** *Cheiranthus lividus* Delile. (1814), *Matthiola livida* (Delile.)DC. (1821) (figure1) (Le Floc'h *et al.*, 2010).

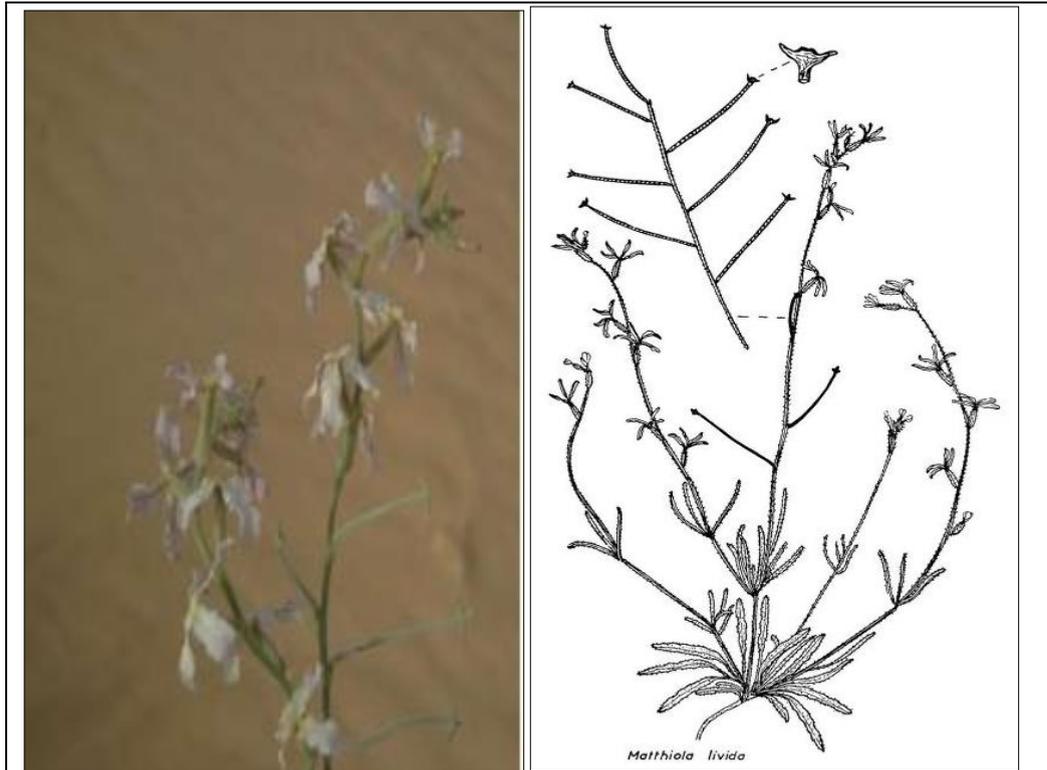


Figure 1 : *Matthiola livida* DC. (Ozanda, 1991; 2005، حليس)

#### I.4. Description botanique de *Matthiola livida* DC.

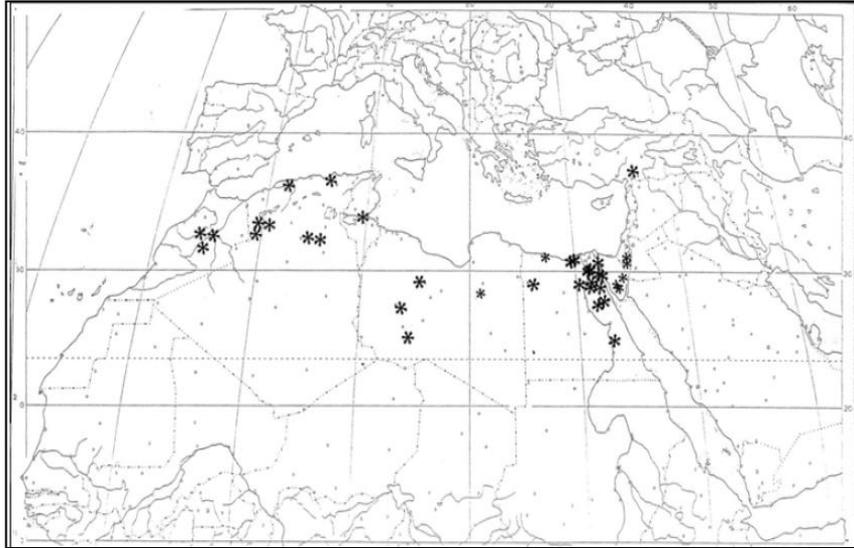
C'est une plante couverte de poils étoilés, glandulaires et dendroïdes (Kadry, 2005). Est une herbe annuelle de 15 à 50 cm de hauteur, canescentes avec poils glanduleux, étoilés et ramifiés, glutineuses, jaune-vert. Elle possède une tige ramifiée et dressée (Kadry, 2002). Les feuilles sont étroites (Ozanda, 1977), recouvertes de poils étoilés et glandulaires. Les fleurs sont petites qui mesure 1 mm de long, sépales de 7 à 9 mm (Kadry, 2002), pétales sont courts (12-15 mm long), très étroits (2mm large), très ondulés, livides ou violets (Maire, 1977) .

Les fruits portant au sommet deux cornées de part et d'autre du style proéminent (Ozanda, 1977). Le septum est membraneux chez *Matthiola livida* (Kadry, 2002). La graine est de forme oblong, taille 0.8-1 x 0.4-0.6 mm, couleur de graines marron, radicule vers le bas (Kadry, 2002).

*Matthiola livida* DC. se caractérise par une odeur aromatique après le coucher du soleil (2005، حليس). Il pousse sur sols sablonneux, oueds pierreux et plaines (Kadry, 2002), mais plus développé dans les zones fermé protégées (2005، حليس).

### I.5. Distribution

C'est une plante se trouve dans Saudi Arabia, Palestine et North-Africa (**Kadry, 2002**) dans un zone géographique étroite, en particulier de l'Égypt à Morocco (**Hammami et al., 2006**). *Matthiola livida* commun dans tout le sahara septentrional, central et sahara oriental (**Ozanda, 1977**).



**Figure 2 :** Distribution de *Matthiola Livida* DC. (**Kadry, 2002**)

### I.6. Utilisation traditionnel

Au Sahara occidental, les nomades utilisent les graines comme réchauffant (ajoutées aux sauces du couscous au aux soupes) (**Beitlakhdar, 1997**). Aussi ils ont Utilisé à pastorale (2005، حليس).

### I.7. Etudes antérieurs

- L'extrait méthanolique des parties aériennes de *M. Longipetala* (sous-espèce *livida*) a été purifié par des méthodes chromatographiques pour donner six composés flavonoïdes identifiés comme kaempférol 3-O- (2'' -  $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) - $\beta$ -L-arabinopyranoside-7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside... etc (**Marzouk et al., 2008**).

- Une étude phytochimique antérieure ont conduit à l'identification du glycoside de méthylfirulate-4-O- $\beta$ -D pour la première fois dans l'extrait méthanolique de l'espèce *Matthiola longipetala* (ssp. *Livida*) (Del.) Maire (Brassicaceae) poussant en Tunisie (**Hammami et al., 2009**).

- L'activité cytotoxique de l'extrait alcoolique de *Matthiola longipetala* (subsp. *Livida*) contre les lignées de cellules tumorales humaines du col de l'utérus et du côlon. Ont montré des valeurs IC<sub>50</sub> de 22,1 et 53,7 g/ml, respectivement. Aucune activité n'a été trouvée contre les cellules de carcinome de foie (**Marzouk et al., 2008**).

- L'administration orale d'un extrait obtenu de *Matthiola livida* DC. aux rats sains a produit un effet hypoglycémique persistant. En outre, chez les rats diabétiques alloxanisés, cet extrait a montré un effet hypoglycémique plus puissant que celui de Daonil (**Bnouham et al., 2006**).

# **Chapitre II**

## **Métabolites Secondaires**

### II.1. Généralité

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (**Merghem, 2009**).

Les plantes produisent en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**). Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique) (**Peeking et al., 1987**) car leurs propriétés comme antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticarcinogènes ou mutagènes (**Epifano et al., 2007**).

De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes photochimiques, source de molécules biologiquement actives (**Mohammedi, 2013**).

### II.2. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**).

Les métabolites secondaires sont des molécules indirectement essentielles pour la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200,000 structures définies) (**Rahmani, 2017**).

### II.3. Distribution et localisation

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante (**Hartmann, 2007**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclut la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**).

## II.4. Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse: la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate (**Verpoorte et Alfermann, 2000**). La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, ...), de la voie des pentoses phosphate (glycéraldéhyde-3-P, ...) et du métabolisme des lipides (acétyl-CoA, ...). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires (**Mayer, 2004**).

## II.5. Rôle biologique

Les métabolites secondaires sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises comme:

- Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement.
- La régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux.
- Ils participent ainsi, d'une manière très efficace dans la tolérance des végétaux a des stress varies: action anti-herbivore, inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons et défense contre la sécheresse et lumière UV.
- Ils interviennent pour attirer les agents charges de la pollinisation; mais elles peuvent être anti-nutritives. Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques (**Raven et al., 2000; Hartmann, 2007**).

## II.6. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés en 3 classes majeures: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité( **Krief, 2003**).

### II.6.1. Polyphénols

#### II.6.1.1. Généralité

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires très largement répandues dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8.000 structures ont été identifiées (**Boubekri, 2014**). Ainsi, ils constituent une vaste famille

de métabolites secondaires comprenant plusieurs groupes, contenant chacun quelques dizaines à plusieurs milliers de molécules différentes. Ces derniers sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes, où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles telles que l'amertume (Hadjali, 2017). Ils sont présents aussi dans les racines, les tiges, les feuilles de tous les végétaux, en plus des fruits et légumes on les trouve dans les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales et les graines oléagineuses (Middleton *et al.*, 2000).

### II.6.1.2. Structure chimique

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque au quel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside (figure 3) (Achat, 2013).

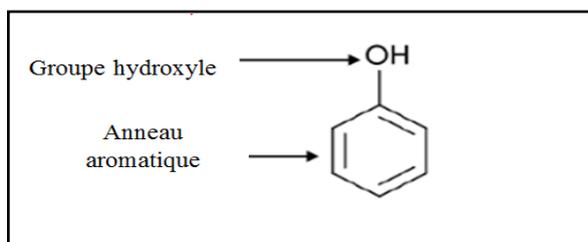


Figure 3 : Structure de base des polyphénols (Achat, 2013)

### II.6.1.3. Biosynthèse des polyphénols

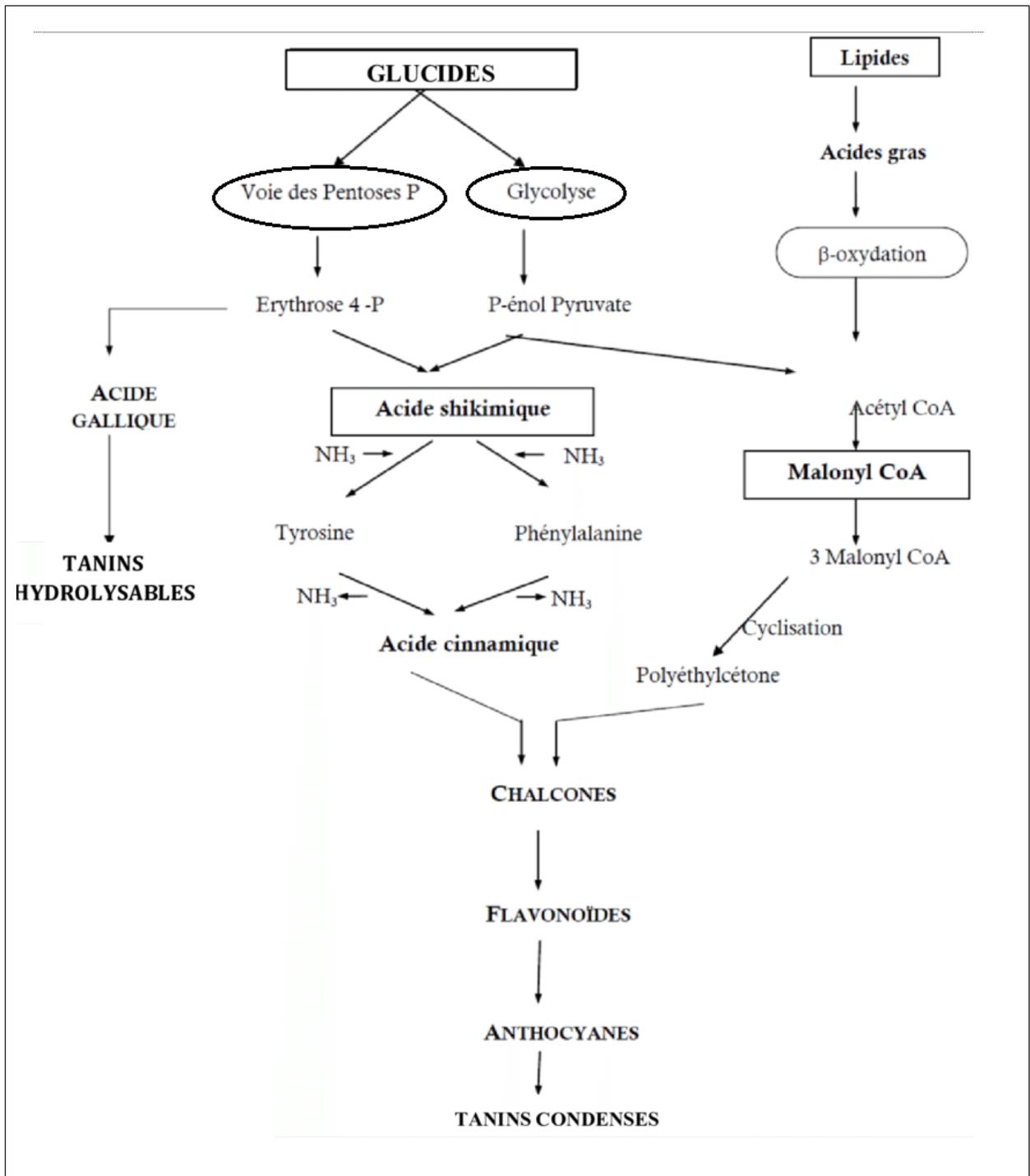
Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques:

#### A. Voie du schikimate

L'acide shikimique conduit à la synthèse de certains acides aminés aromatiques comme la L-phénylalanine et/ou la L-tyrosine, puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés comme les flavonoïdes, les coumarines (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

#### B. Voie de l'acétate

Ce mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation des chaînes polycétonique, elle obtenues par condensation de groupements acétates (figure 4) (Bruneton, 1993).



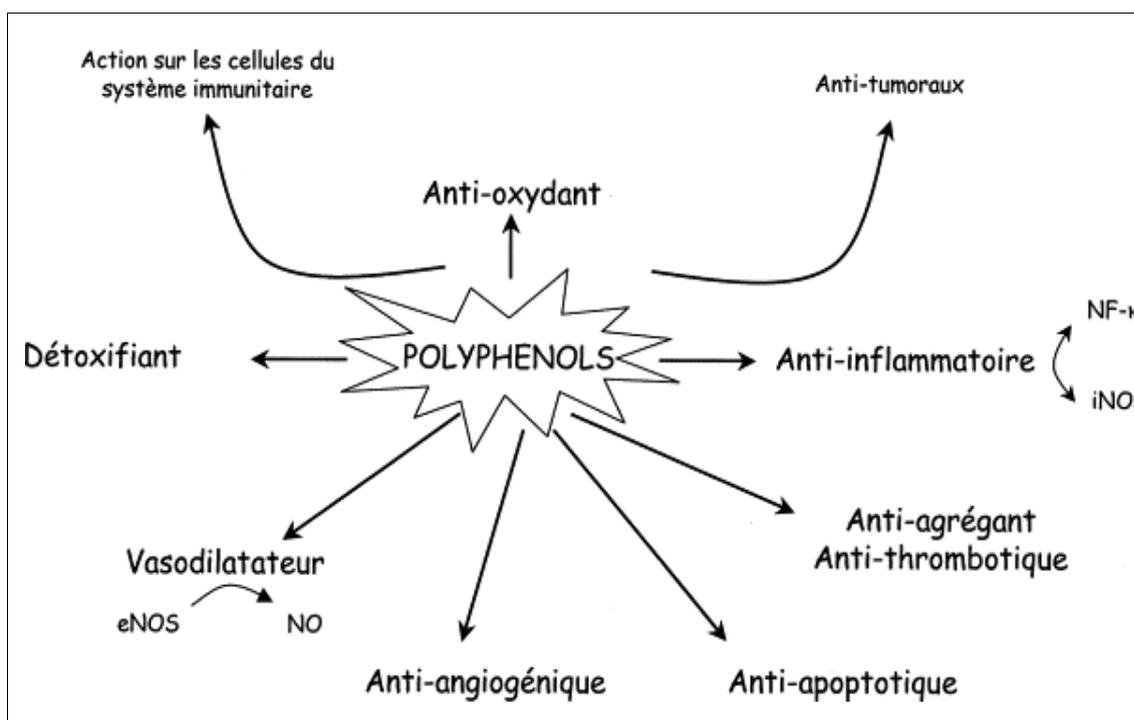
**Figure 4 :** Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011)

#### II.6.1.4. Propriétés biologiques

Les polyphénols prennent une importance croissante grâce à leurs propriétés et leurs effets bénéfiques sur la santé des êtres humains ou chez les végétaux.

- Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les fruits et les légumes.
- Un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance.
- Certains d'entre eux jouent le rôle permettant de lutter contre les infections causées par les champignons ou par les bactéries.
- D'autres sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies.
- Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (Macheix *et al.*, 2005).

Aussi, ils montrent des activités anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses, anti-allergènes, vasodilatatrices (figure 5) (Stoclet *et al.*, 2004).



**Figure 5 :** Effets biologiques des polyphénols (Benhamama, 2015)

#### II.6.1.5. Classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par Harborne en 1980, on peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre

d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (tableau 2) (Tili, 2015).

**Tableau 2** : Les principales classes de composants phénoliques (Bellebcir, 2008)

Squelette Carboné	Classe
$C_6$	Phénols simples
$C_6-C_1$	Acides hydroxybenzoïques
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamique, coumarines
$C_6-C_4$	Naphtoquinones
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins

#### II.6.1.5.1. Phénols simples

Les phénols simples sont des composés phénoliques dont la structure est faite d'un phénol et d'un ou plusieurs groupements hydroxyles (Kone, 2018). Ils sont rares dans la nature, exemple catéchol (Krief, 2003).

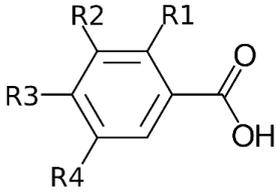
### II.6.1.5.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (**Ignat *et al.*, 2011**). Ils sont représentés par deux sous-classes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Ramla, 2017**).

#### ➤ Acides hydroxybenzoïques

Acides hydroxybenzoïques (C6-C1): dérivent de l'acide benzoïque, exemple: l'acide gallique, Vanillique (tableau 3) (**Boubekri, 2014**).

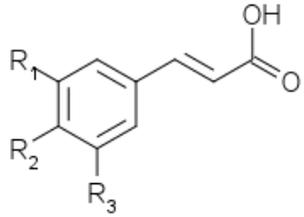
**Tableau 3** : Exemples de dérivés d'acide hydroxybenzoïque (**Therriault, 2004**)

Squelette	Composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
	Acide vanillique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
	Acide gallique	H	OH	OH	OH

#### ➤ Acides hydroxycinnamiques

Acides hydroxycinnamiques (C6-C3): dérivent de l'acide cinnamique, exemple: l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide caféique (tableau 4) (**Khater, 2011**), les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques (**Pandey et Rizvi, 2009**).

Tableau 4 : Exemples de dérivés de l'acide hydroxycinnamique (Ksouri *et al.*, 2012)

Squelette de base	Composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
	Acide p-coumarique	H	OH	H
	Acide férulique	OCH <sub>3</sub>	OH	H
	Acide caféique	OH	OH	H

### II.6.1.5.3. Flavonoïdes

#### II.6.1.5.3.1. Généralité

Le terme flavonoïde (de flavus « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Benmoussa *et al.*, 2008). C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhammou, 2012).

Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus et ont tous le même squelette de base à 15 atomes de carbones, constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (figure 6) (Akroum, 2011).

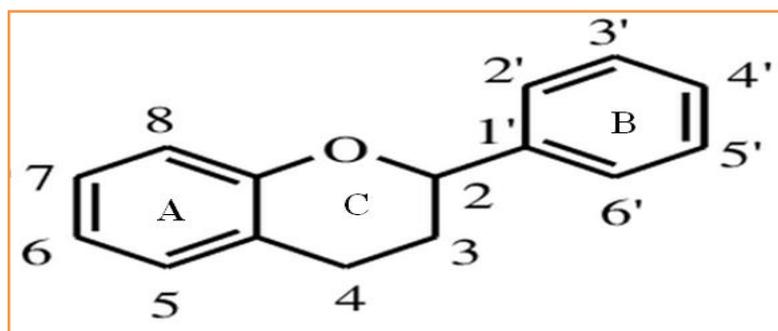


Figure 6 : Squelette de base des flavonoïdes (Collin et Creast, 2011)

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano *et al.*, 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana *et al.*, 2001; Malesev et Kuntic, 2007).

**II.6.1.5.3.2. Classification**

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes (tableau 5) (Tabart, 2011).

**Tableau 5** : Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples (Nkhili, 2009)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

### II.6.1.5.3.3. Propriété biologique des flavonoïdes

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs (**Hammoudi, 2009**).

Les flavonoïdes présentent de nombreuses activités: antioxydants, anti-inflammatoires, antivirales, antiallergiques, anti-hypertensives, hypocholestérolémiantes, anticancéreuse, inhibitrices d'enzymes et préventions des maladies cardiovasculaires; en pharmacologie les aglycones sont particulièrement efficaces (**Sharma et al., 2008 ; Ferradji, 2010**). Aussi ils protègent la plante contre l'attaque des champignons et des insectes. Les flavonoïdes montrent à des propriétés dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance (**Merghem, 2009**).

### II.6.1.5.4. Tanins

#### II.6.1.5.4.1. Généralité

Les tanins (ou les tannins) sont des polyphénols polaires de haut poids moléculaire (>3000Da) d'origine végétale existant dans presque toutes les parties de la plante: écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant (**Khanbabaea et Ree, 2001**). Les tanins, communs aux plantes vasculaires, existent principalement dans les tissus ligneux, Les tissus végétaux riches en tanins ont un goût très amer et sont évités par la plupart des animaux (**Kone, 2018**).

#### II.6.1.5.4.2. Classification

Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes:

##### ➤ **Tanins hydrolysables**

Ce sont des polyesters de glucides (généralement le glucose) et d'acides phénols (acide gallique ou ellagique). Ils sont divisés en deux types:

- Les tanins galliques (Gallo tanins) qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.

- Les tanins ellagiques (Ellagi tanins) qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques (Macheix *et al.*, 2005).
- Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique telle que la tannase (figure7) (Rira, 2006 ; Kahlouche, 2014).

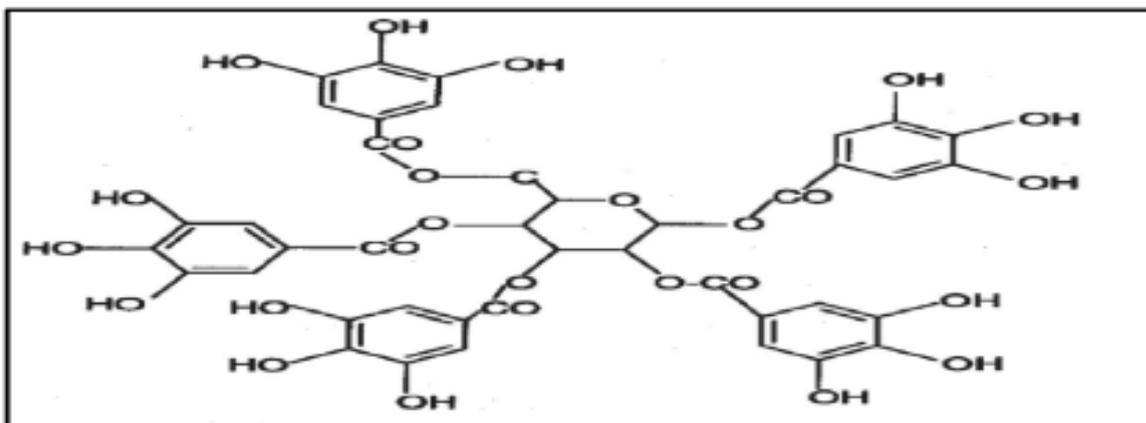


Figure 7 : Structure générale de tanins hydrolysable (Berreghioua, 2016)

#### ➤ Tanins condensées

Les tannins condensés, appelés aussi pro-anthocyanidines, ils sont des polymères d'unités flavonoïdes (flavan-3-ols et/ou flavan-3,4-diols) reliées par des liaisons fortes carbone-carbone ayant un poids moléculaire élevé (Hagerman, 2002 ; Kahlouche, 2014).

Les tanins condensés (tanins non hydrolysable) sont des substances qui ne sont pas hydrolysées par les acides, ni par la tannase (Djahra, 2014). Ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges (figure 8) (Macheix *et al.*, 2005).

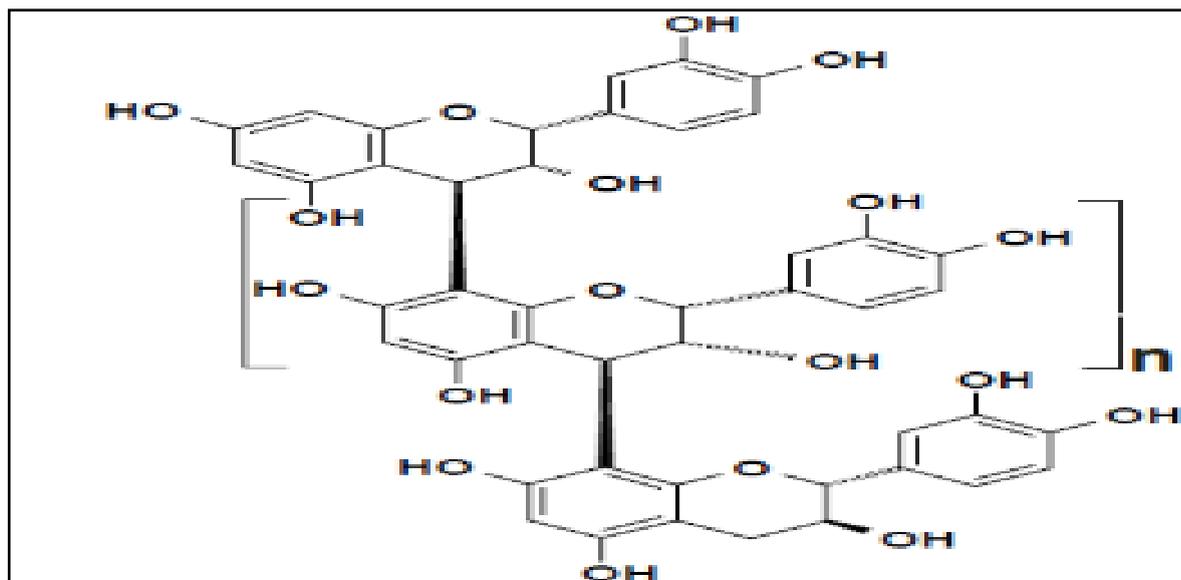


Figure 8 : Structure des tanins condensés et leur monomère (Berreghioua, 2016)

#### II.6.1.5.4.3. Propriétés des tanins

- Les tanins rendent le cuir solide et résistant aux microorganismes (tannage).
- Ils sont généralement non cristallisables, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone et peu ou pas dans l'éther.
- Ils précipitent en présence de protéines (albumine), d'alcaloïdes et de certains colorants.
- Ils sont également utilisés comme coagulants dans le caoutchouc.
- Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits, formulations des agents de conservation du bois (Rira, 2006).

#### II.6.1.5.5. Les coumarines

Les coumarines sont des substances aromatiques naturelles très largement distribuées dans le règne végétal (Berhail, 2014). La coumarine est issue du métabolisme de la phénylalanine par l'acide cinnamique, que l'on trouve dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998).

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3 (Benhammou, 2012), sont des substances phénoliques, formées de l'union de noyau benzénique et  $\alpha$ -pyrone (Benayache,

2005), donc connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyran-2-one et leur Formule brute:  $C_9H_6O_2$  (Rezine et Fedouche, 2017).

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés, Leur squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (figure 9) (Ford *et al.*, 2001).

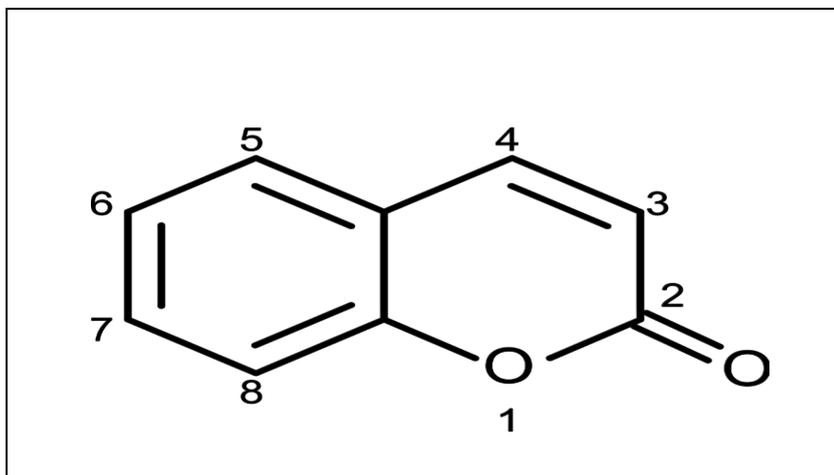


Figure 9 : Structure générale de la coumarine (Cowan, 1999)

## II.6.2. Terpènes

### II.6.2.1. Généralité

Les terpènes ou composés terpéniques ou nommés également isoprénoïdes, sont l'une des classes les plus diverses de métabolites secondaires. (Kone, 2018). Ils font partie d'un des plus importants groupes de produits naturels, avec plus de 30 000 produits connus à ce jour (Calancea, 2008).

Ils ont un caractère commun car ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du:2-méthylbuta-1,3-diène), appelées unités isopréniques ou l'isoprène ( $C_5H_8$ ) (figure 10) (Lamarti *et al.*, 1994) et pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire  $(C_5H_8)_n$  (Nait Achour, 2012).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, ...) (Malecky, 2008). Ils sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit linéaires (chaîne ouverte) (Khenaka, 2011).

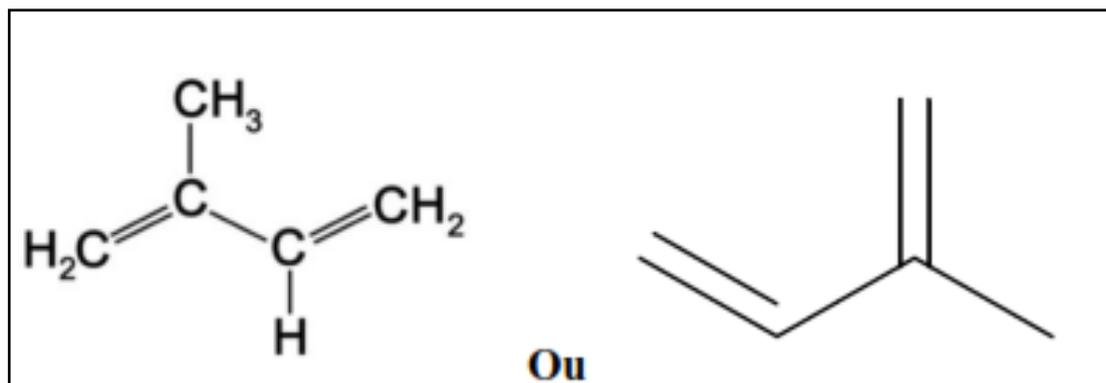


Figure 10 : Structure de la molécule d'isoprène (Khenaka, 2011)

#### II.6.2.2. Répartition et localisation

On retrouve les terpènes chez les champignons, des algues marines, des insectes, mais la plus grande partie de ces substances est retrouvée dans les plantes (Malecky, 2008). Ils sont trouvés dans tous les organes végétaux: fleurs, feuilles, écorces et fruits ou graines. La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de tissus spécialisées, localisées en certains points des autres tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (Hopikins, 2003).

#### II.6.2.3. Activités biologiques

De nombreux terpénoïdes ont la particularité de dégager de fortes odeurs et permettent la fabrication d'huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique (parfum), utilisées aussi pour traiter les maladies de la respiration (Valnet, 2003).

#### II.6.2.4. Classification des terpénoïdes

Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène comme illustré par le tableau 6 (Benabdelkader, 2012).

Chacune de ces classes a son importance, soit dans le développement des plantes, soit dans le métabolisme ou l'écologie. La plupart des terpénoïdes naturels ont une structure cyclique substituée par un ou plusieurs groupements fonctionnels (Calancea, 2008).

Tableau 6 : Classification des terpénoïdes (Belbache, 2003)

N	Squelette carboné	Type de terpénoïdes	Exemple de molécule
1	C5	Hemiterpène	Isoprène
2	C10	Monoterpène	Nérol, citronnelle, huiles essentielles
3	C15	Sesquiterpène	$\beta$ -cadinène
4	C20	Diterpène	Sclaréol, phytol
6	C30	Triterpène	Lanostérol
8	C40	Tetraterpène	Caroténoïdes
>8	>40	Polyterpène	Caoutchouc

### II.6.3. Alcaloïdes

#### II.6.3.1. Généralité

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules renfermant du carbone, de l'hydrogène et plus spécialement de l'azote. Leur dénomination de l'arabe al kali (qui a donné « alcali » base), fait référence à leur caractère « alcalin » ou « basique » (Berhail, 2014).

Ils sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes (Mauro, 2006) et se terminent par le suffixe "ine" comme presque tous les produits naturels. Le premier « alcali végétal » isolé à l'état défini fut la morphine de l'opium (Berhail, 2014).

Les alcaloïdes constituent un vaste groupe de métabolites secondaires (**El Tahchy, 2010**), qui ont eu un impact majeur dans l'histoire médicale de l'homme (**Al-Fartosy et al., 2013**).

Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'avoir un goût amer, de propriétés physiologiques marquées prononcées même à faible dose (**Hanson, 2003 ; Zenk et Juenger, 2007**).

### II.6.3.2. Biosynthèse des alcaloïdes

L'origine biosynthétique de la plupart des alcaloïdes sont les acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes (**Mauro, 2006**). Leur synthèse s'effectuent le plus souvent au niveau de sites précis, ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage (**Bruneton, 1999**).

### II.6.3.3. Distribution et localisation

Chez le végétaux, les alcaloïdes sont des composés essentiellement présents chez les angiospermes, ils sont exceptionnels chez les bactéries, et assez rares chez les champignons. Ils existent également chez les animaux (**Bruneton, 1999**). La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces, exemple: racine, feuille, fruit, écorce, graine...etc (**Ghedjati, 2014**).

### II.6.3.4. Classification des alcaloïdes

Plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes (**Mauro, 2006**), On peut classer les alcaloïdes en trois classes:

- **Alcaloïdes vrais:** ils sont des dérivés des acide aminés, basique et contiennent l'azote dans l'hétérocycle. Ce groupe représente la majorité des alcaloïdes, par exemple la nicotine et l'atropine.
- **Proto-alcaloïdes:** sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, Ils dérivent aussi d'acides aminés, par exemple l'éphédrine.

- **Pseudo-alcaloïdes:** ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, ils sont basique mais ne sont pas dérivés des acides aminés, par exemple caféine (figure 11) (Foley, 2003 ; Badiaga, 2011)

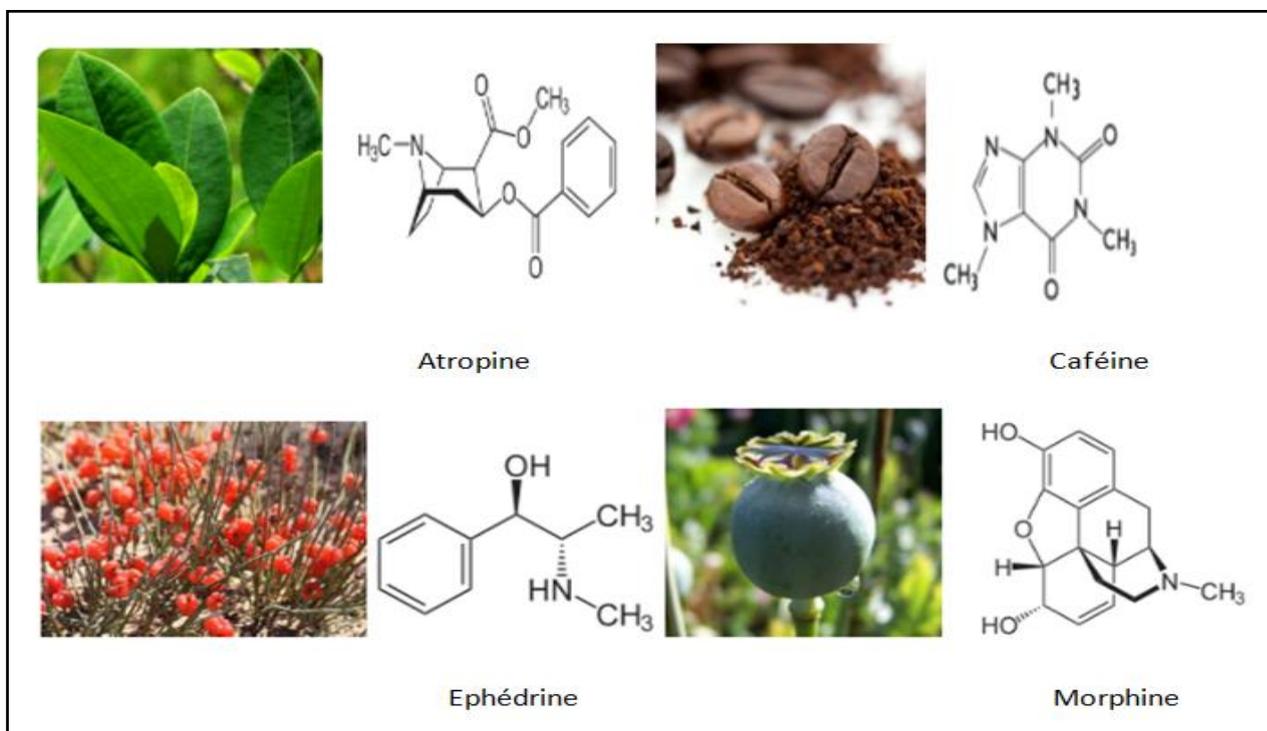


Figure 11 : Quelques exemples des alcaloïdes (Badiaga, 2011)

### II.6.3.5. Intérêts des alcaloïdes

#### Effet sur la plante:

- Ils régulent la croissance et le métabolisme interne végétal.
- Ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal (Mauro, 2006).
- Ils Protègent la plante contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les Herbivores (Bhat *et al.*, 2005).
- Ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol (Merghem, 2009).

#### Effet pharmacologique:

Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés, elles sont bénéfiques dans le traitement de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain.

- Dépresseurs (morphine) ou stimulants (caféine) au niveau du système nerveux central.
- Sympathomimétiques (éphédrine), parasympathomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.
- Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine) anti-paludiques (quinine)...etc (**Badiaga, 2011 ; Berhail, 2014**).

# **Deuxième partie**

**Etudes**

**expérimentales**

# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

Le travail qui a fait l'objet de ce mémoire a été réalisé au laboratoire pédagogique qui fait partie de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued.

Le présent travail s'oriente sur l'étude phytochimique et l'activité biologique d'une plante saharienne de la région d'Oued Souf. L'étude porte sur l'extraction des extraits bruts issus de *Matthiola livida* DC., l'estimer des métabolites primaires et la teneur des composés bioactifs essentiels tel que les polyphénols totaux et les flavonoïdes et évaluée leurs activités biologiques *in vitro* (l'activité antioxydante et anti-inflammatoire).

### I.1. Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail expérimental est *Matthiola livida* DC. de la famille Brassicaceae. La récolte s'est effectuée en 25 Avril 2019 au niveau de la localité de Hassi Khalifa wilaya d'El Oued (33°33'44" Nord et 6°59'25" Est). L'identification de plante étudiée a été faite par le Dr. CHOUIKH Atef, Le séchage s'est fait à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après séchage, la partie aérienne de la plante a été broyée pour obtenir la poudre de plante puis stockée dans des flacons en verre dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

### I.2. Méthodes d'étude

#### I.2.1. Dosage des métabolites primaires (glucides, protéines et lipides)

##### I.2.1.1. Préparation de l'extrait

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de **Shibko et al. (1966)** décrit par (**Djeghader, 2014**) selon les étapes suivantes (figure 12):

- On prend 0.5 g de poudre de *Matthiola livida* DC. dans une bicher.
- Ajout 5 ml d'acide trichloracétique (TCA 20%) et on mélange par l'agitateur magnétique pendant 5 minute puis mettre dans un tube en verre.
- Sépare le mélange par la centrifugeuse pendant 10 minute (3000 tours/min).
- Obtenons de surnageant (**I**) pour le dosage des glucides.
- Pour le culot (**I**) on ajout de volume de 2ml éther/chloroforme (1V/1V).
- Puis on sépare le mélange par la centrifugeuse 10 minute (3000 tours/min).

- Le deuxième surnageant (II) pour le dosage des lipides.
- Pour le dosage des protéines on ajout volume de 5ml de NaOH (0.1N) pour le deuxième culot(II).

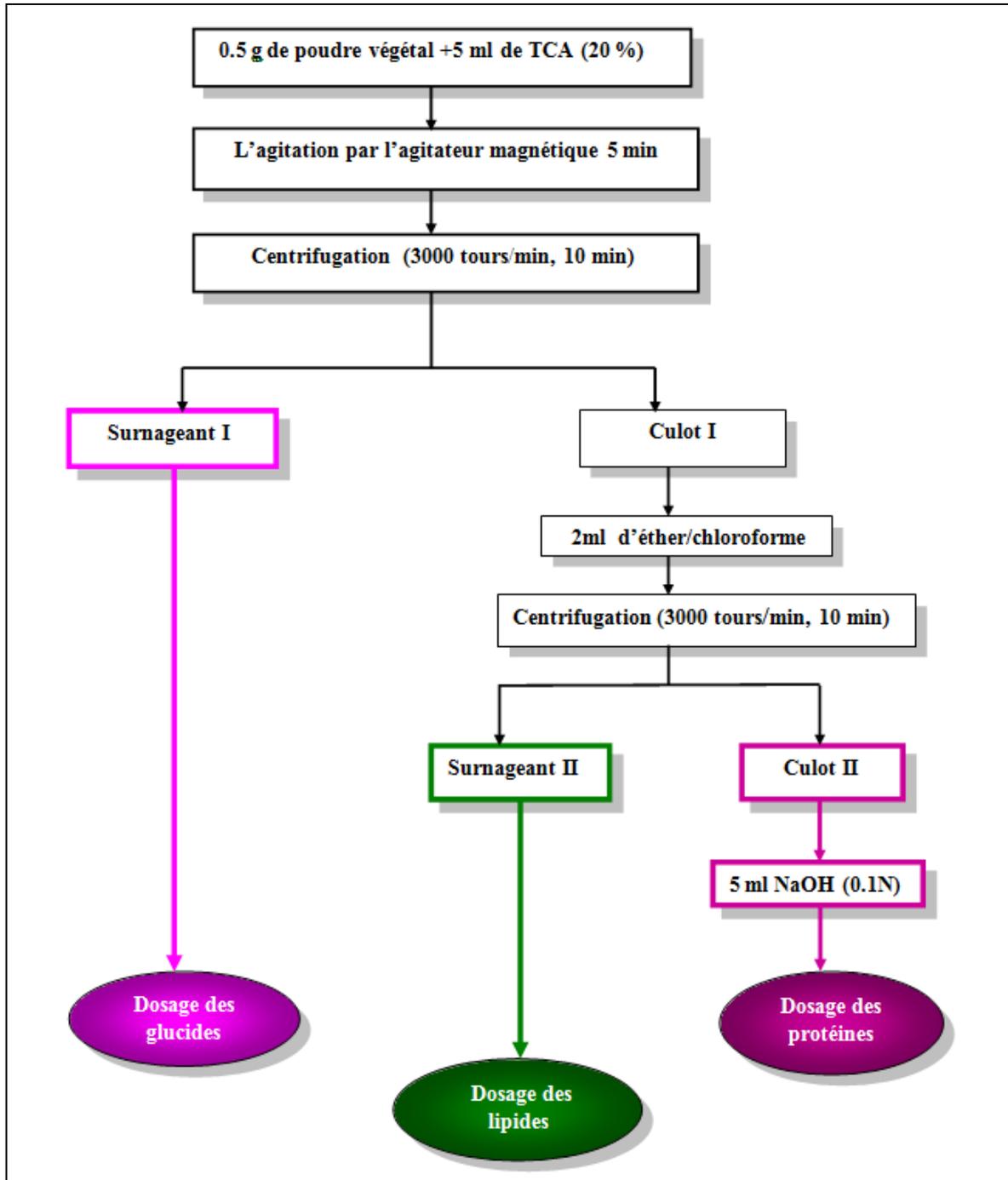


Figure 12 : Principales étapes d'extraction des métabolites selon Schibko *et al.* (1966)

### I.2.1.2. Dosage des glucides

Les glucides ont été dosés selon la méthode de **Dubois *et al.* (1956)**.

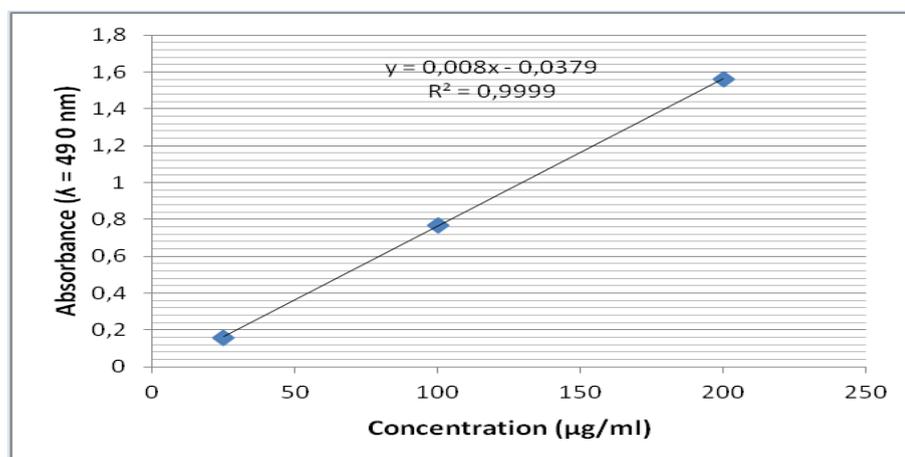
#### A. Préparation de solution d'étalonnage

On dissout 5 mg de glucose dans une 5 ml d'acide sulfurique (1N) pour obtenir une solution de 1000 µg/ml, puis on prépare une série des différentes concentrations.

#### B. Mode opératoire

Dans les tubes en verres, 1ml de l'étalon ou de l'échantillon (surnageant **I**) avec 1ml de solution de phénol à 5 %, puis 5 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté et homogénéisé. Les tubes sont laissés 15min à température ambiante à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 490 nm (**Brudieux, 2007**).

On dessine la gamme étalonnage à partir des résultats de la lecture des solutions standards (figure 13) pour calculer la teneur de glucides dans un échantillon mg/g de poids sec.



**Figure 13** : Courbe d'étalonnage de glucose

### I.2.1.3. Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de **Lowry *et al.* (1951)** décrit par **Krishmaszamy et Prabhu (2012)**.

### A. Préparation des réactifs

- **Réactif A:** 50 ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2%) avec 50 ml d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  (0,1 N).
- **Réactif B:** 10 ml de Sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$  (0.5 %) avec 10 ml  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.1%).
- **Réactif C:** 2 réactifs de Folin-Ciocalteu dilué par l'eau distillé (1V/1V).
- **Réactif D:** mélange constitué de 50 ml de réactif **A** avec 1 ml de réactif **B**.

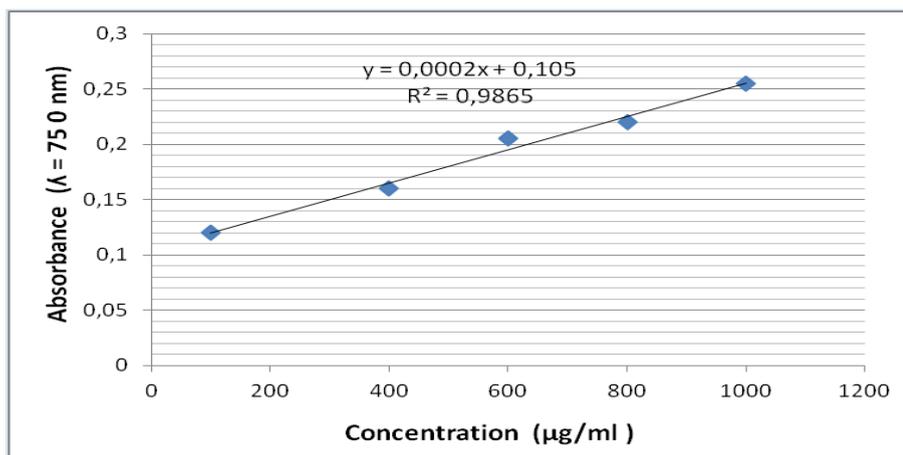
### B. Préparation de solution d'étalonnage

On mélange 3 mg de sérum d'albumine bovine (BSA) avec 3 ml de solution d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  (0.5 N) pour obtenir une solution à concentration de 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . On prépare différentes concentrations de solution d'étalonnage à partir de cette solution pour déterminer expérimentalement l'équation du courbe étalon et pour calculer la teneur de protéines.

### C. Mode opératoire

- Une quantité de 200  $\mu\text{l}$  de l'étalon ou de l'échantillon à doser, est placée dans un tube en verre.
- On ajoute 2 ml de réactif **D** et 2 ml de réactif **C**, le mélange est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante.
- L'absorbance est lue à 750 nm par un spectrophotomètre.

On dessine la gamme étalonnage à partir des résultats de la lecture des solutions standards (figure 14) pour calculer la teneur de protéines dans un échantillon  $\text{mg}/\text{g}$  de poids sec.



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de BSA

#### I.2.1.4. Dosage des lipides

Nous avons suivi la méthode de **Goldsworthy *et al.* (1972)** décrit par **Beldi (2007)** pour l'estimation des lipides.

##### **A. Préparation de solution d'étalonnage**

On dissout 2.5 mg d'huile (100% de soja) en 1 ml de solution éther/chloroforme (1V/1V) pour obtenir une solution à concentration de 2500 μg/ml. On prépare différentes concentrations de solution d'étalonnage à partir de cette solution.

##### **B. Préparation de solution détectrice (sulfophosphovanillinique)**

On mélange 76 mg de vanilline dans 11 ml d'eau distillé et on ajoute 39 ml d'acide phosphorique H<sub>3</sub>PO (85%) pour obtenu une solution de 50 ml.

##### **C. Mode opératoire**

On met 0.1 ml d'échantillon à doser (surnageant **II**) ou d'étalon dans un tube en verre.

- On ajout 0.1 ml d'acide sulfurique concentré.
- Le mélange est homogénéisé et laisse dans un bain-marie à 100 C° pendant 10 minutes.
- Après le tubes sont refroidir on prendre 0.15 ml et mettre dans des autres tubes.

- On ajoute 1.5 ml de solution de sulfophosphanillique.
- On laisse la réaction colorée se développer pendant 30 min à l'obscurité.
- La lecture de l'absorbance est effectuée à 530 nm par un spectrophotomètre.

On trace la courbe de gamme d'étalonnage à partir des résultats de la lecture des solutions standards (figure 15). Qui détermine la concentration de lipides dans un échantillon mg/g de poids sec.

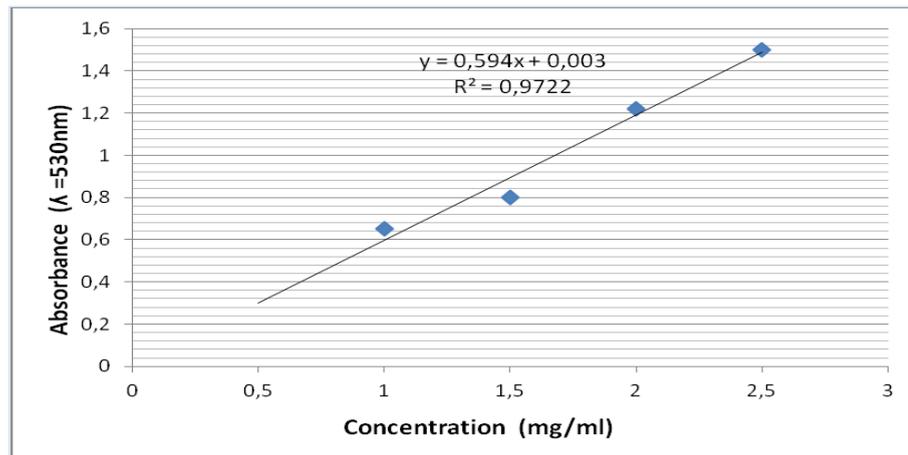


Figure 15 : Courbe d'étalonnage d'huile de soja

## I.2.2. Méthode d'extraction

### I.2.2.1. Préparation des extraits bruts

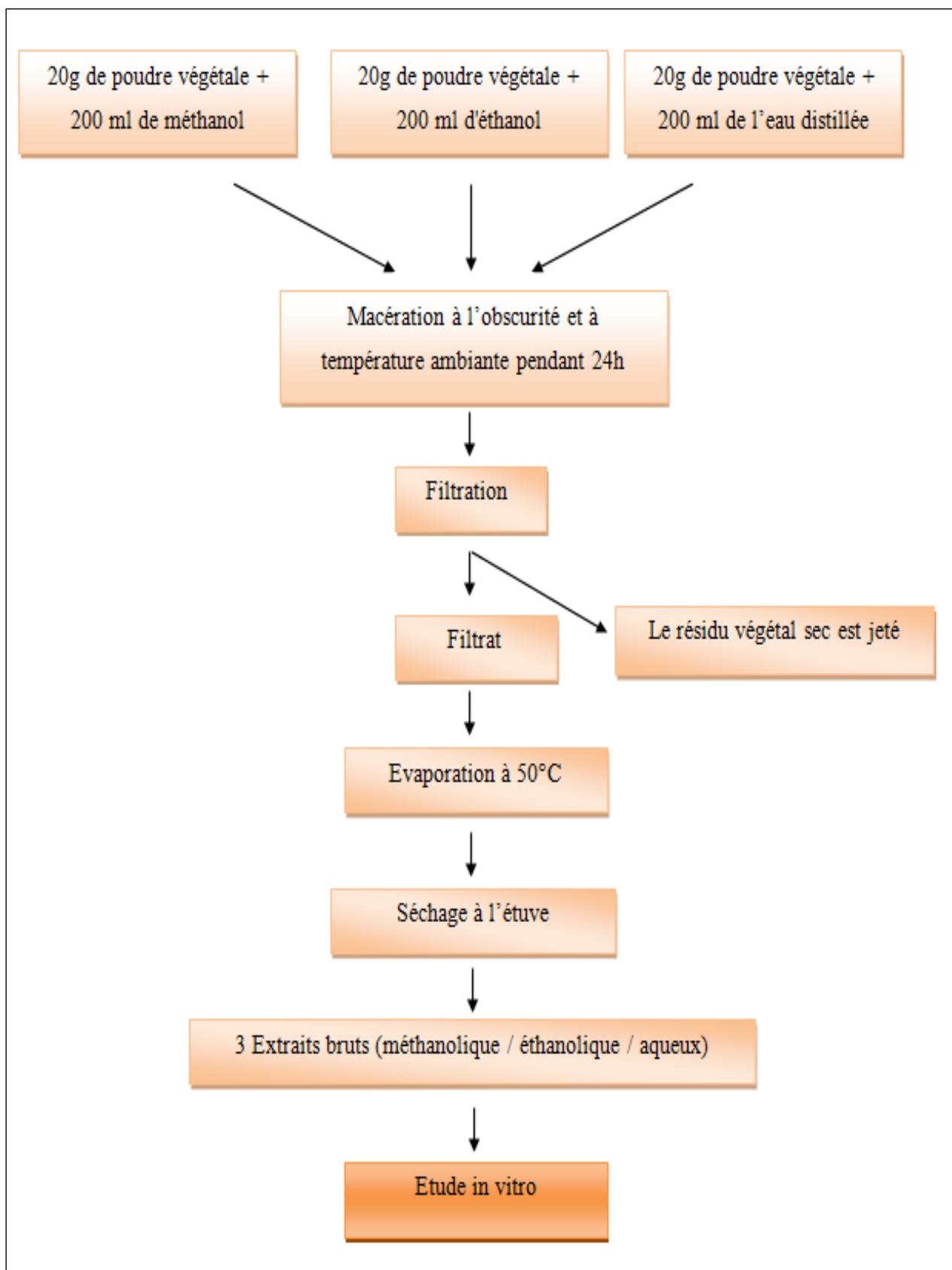
#### A. Principe

Dans ce travail nous avons utilisé la méthode la plus connue chez les phytochimistes (la macération). La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation pour extraire les espèces (molécules) présentes dans une substance naturelle par sa dissolution dans ce solvant à température ambiante et utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (Leybros, et Fremeaux, 1990; Bellebcir, 2008).

**B. Mode d'opération**

Pour préparer 3 extraits bruts, on utilise 3 types des solvants (méthanol, éthanol et l'eau distillée) par les mêmes étapes d'extraction.

En a placé 20g de matériel végétal de *Matthiola livida* DC. dans un erlenmeyer avec 200 ml de solvant pendant 24 h à l'obscurité et à température ambiante, ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre. Après filtration, la solution est évaporée par un évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R- 210 à 50°C. Puis séché à l'étuve à une température ne dépasse pas 45°C (**Matkowski et Piotrowska, 2006 ; Chouikh *et al.*, 2016**) et l'extrait conservé jusqu'à l'utilisation. Ces étapes sont illustrées dans (figure 16).



**Figure 16 :** Protocole d'extraction des extraits bruts

### I.2.2.2. Détermination de rendement

Le rendement d'extraction de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait sec obtenu et le poids de matière végétale utilisée, il est calculé par la formule donnée par **Chouikh et al. (2015)**.

$$R (\%) = (PEB/PMV) \times 100$$

**R:** Rendement en %

**PEB:** Poids de l'extrait Brut (g)

**PMV:** Poids de matière Végétale(g)

### I.2.3. Analyse quantitative des composées phénoliques

#### I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

##### A. Principe

L'analyse quantitative des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1999**), le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (**Bonnaillie et al., 2012**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

##### B. Mode opératoire

0.2 ml de la solution d'extrait brut est additionné à 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée, Après 5 min, ont ajouté 0.8ml de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7.5 %. Le mélange obtenu est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

On a préparé la solution standard d'acide gallique pour l'estimation des composés phénoliques des extraits bruts (méthanolique, éthanolique et aqueux).

La concentration des polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent en acide gallique (AG) par gramme de l'extrait (mg E AG/g Ex) (Chouikh & Rebiai, 2020), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (figure 17).

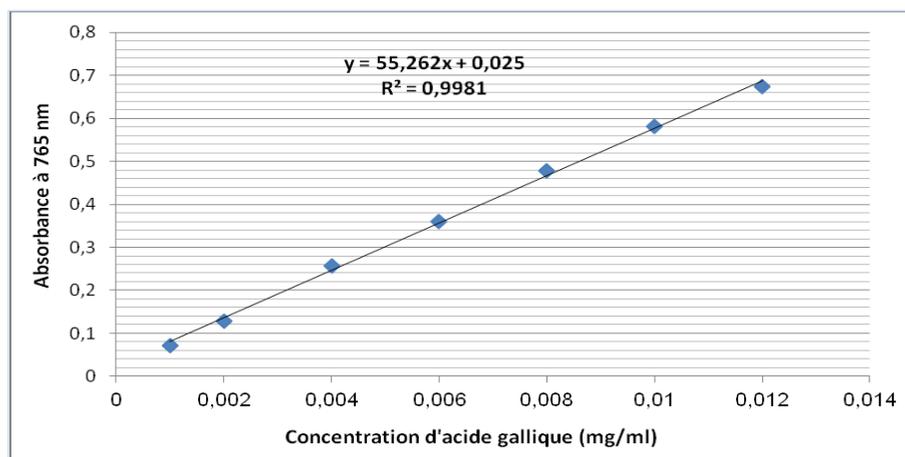


Figure17 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

### I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits bruts aqueux, éthanolique et méthanolique a été déterminée par une méthode colorimétrique, cette méthode est basée sur La méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) cité par Djeridane *et al.* (2006).

#### A. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La formation d'un complexe flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium, utilisé sous sa forme de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), ce complexe donne à la solution une coloration jaunâtre qui absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 420 nm (Chang *et al.*, 2002 ; Khelef *et al.*, 2019).

## B. Mode opératoire

Dans des tubes à essai, une quantité de 1ml de la solution d'extrait brut ou standard a été mélangé avec 1ml de solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$  à 2%). Après incubation pendant 1heure à température ambiante, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 420 nm.

La quercétine a été utilisée comme étalon (figure 18), la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine (Qu) par gramme de l'extrait brut (mg E Qu /g Ex) (Chang *et al.*, 2002).

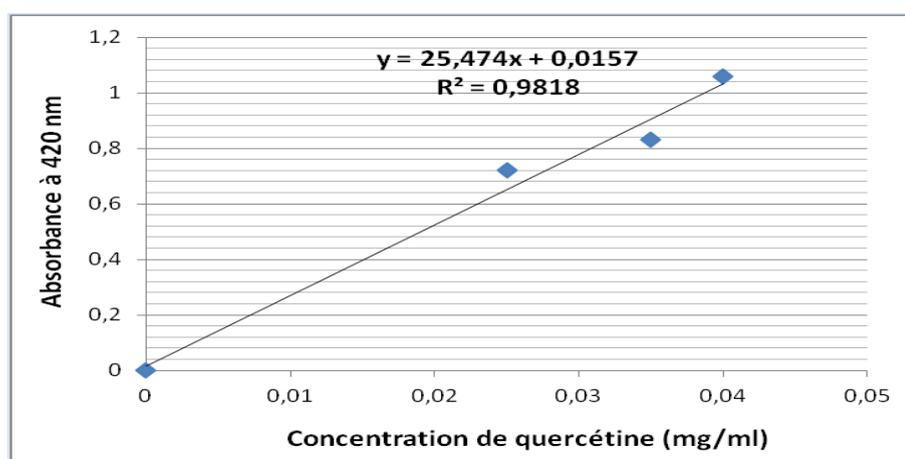


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de quercétine

### I.2.4. Activités biologiques

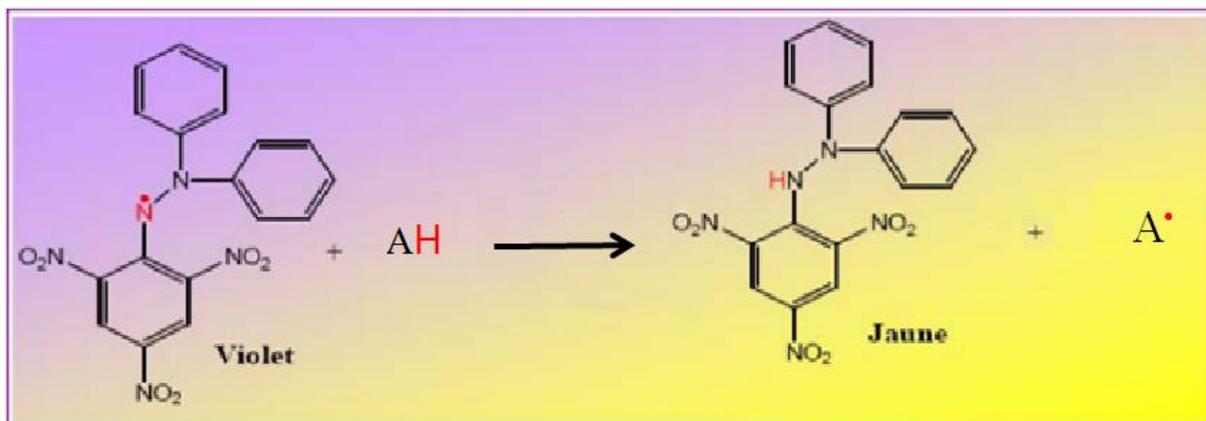
#### I.2.4.1. Activité antioxydante

##### I.2.4.1.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH)

###### A. Principe

Pour étudier l'activité anti radicalaire des différents extraits de *Matthiola livida* DC. *in vitro*, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH<sup>\*</sup> (2,2-diphényle -1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par (Brand-Williams *et al.*, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, en présence d'agent antioxydant donneur d'hydrogène (AH), le DPPH<sup>\*</sup> (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) de couleur violette est réduit à DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune et la forme non radicalaire (Ruiz-Ciau, 2017; Molyneux, 2004).

La réduction du radical DPPH<sup>•</sup> par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm (figure 19) (Merouane *et al.*, 2014).



**Figure 19** : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH (Molyneux, 2004)

### B. Mode opératoire

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par (Brand-Williams *et al.*, 1995).

La solution du DPPH est préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. 0.5ml des différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1ml de la solution du DPPH fraîchement préparée, immédiatement le mélange est complètement agité. Après une incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance est par spectrophotométrie UV visible à une longueur d'onde de 517 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (acide ascorbique), il est préparé dans les mêmes conditions que les échantillons et le contrôle négatif est préparé en mélangeant 0.5ml de méthanol avec 1ml de la solution du DPPH.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante:

$$I \% = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Où:

- **I %**: pourcentage d'inhibition
- **Ac**: absorbance du contrôle.
- **At**: absorbance de l'échantillon (**Oyedapo et al., 2015**).

➤ **Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % (IC<sub>50</sub>)**

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, ils sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. Les résultats sont exprimés en mg/ml. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (**Selaimia et al., 2020**).

#### **I.2.4.1.2. Test d'hémolyse**

##### **A. Principe**

Le but de ce test est mesure la capacité protective de nos extraits des globules rouges, après exposition aux substances oxydantes et aux radicaux libres, en mesurant la proportion de érythrocytes humains dissous (**Lippi et al., 2006**).

##### **B. Mode opératoire**

Le sang est récupéré sur anticoagulant EDTA, ensuite le tube est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min. 2ml du culot ajouter à 1ml de l'eau distillée et en utilisant le dispositif centrifuge à la vitesse 3000 tours pendant 10 minutes. Mettre 40µl de globules rouge et ajoute 2ml de différentes concentrations d'extraits, et laisser le mélange 5 min à 37° C, puis ajouter 40µl de la solution peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30.10<sup>-3</sup> mol/ml), 40µl de solution FeCl<sub>3</sub> (80.10<sup>-3</sup> mol/ml) et 40 µl de solution d'acide ascorbique (50.10<sup>-3</sup> mol/ml), le mélange place dans l'étuve à température 37°C. Après incubation 60 min, le mélange est centrifugé à 700 tours/min pendant 10 min. puis la lecture par spectrophotomètre à la longueur d'onde de λ= 540nm.

Le taux de décomposition des globules rouges est calculé selon la loi suivante:

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs contrôle} / \text{Abs échantillon}] \times 100$$

L'acide ascorbique est utilisé comme un standard (contrôle positif) (Chouikh *et al.*, 2018).

#### I.2.4.2. Activité anti-inflammatoire

##### A. Principe

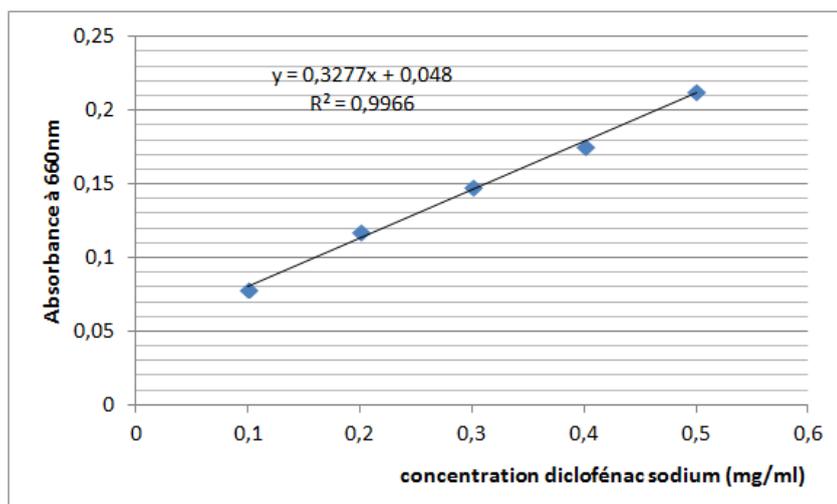
L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts de *Matthiola livida* DC. a été effectuée selon la méthode décrite par Elias et Rao (1988); Padmanabhan et Jangle (2012), le principe est basé sur la capacité d'extrait à empêcher la dénaturation des protéines.

##### B. Mode opératoire

1ml des différentes concentrations de chaque extrait ou de la solution standard (diclofénac de sodium) à différentes concentrations (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 et 0.5 mg / ml) est ajouté à 1ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 5 %, les échantillons ont été incubées à 27 °C pendant 15 min.

La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain marie chauffé à 70°C pendant 10 minutes. Après refroidissement à température ambiante, la lecture de l'absorbance est par spectrophotométrie UV-visible à une longueur d'onde de 660nm en utilisant l'eau distillée comme blanc (Nguemngang *et al.*, 2019).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de diclofénac de sodium par milligramme d'extrait brut (mg Ed/mg Ex) (figure 20).



**Figure 20** : Courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium

### I.2.5. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge (IR)

La spectroscopie IR est une méthode utilisée pour la détermination de la structure des composés organiques, elle est meilleur outil pour identifier les groupes chimiques de différents molécules organiques (Venkat *et al.*, 2017).

#### A. Principe

La Spectroscopie Infra Rouge est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise. Le domaine infrarouge entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  et  $400\text{ cm}^{-1}$  ( $2.5 - 25\text{ }\mu\text{m}$ ) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules (Cozzolino, 2009).

#### B. Mode opératoire

Dans le but de mesurer les spectres infrarouges des extraits étudiés l'intervalle de nombre d'onde utiliser est ( $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ).

**I.2.6. Analyse statistique**

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice à 50% de radical libre DPPH) sont calculées à partir de la courbe [%inhibition= f (concentrations)]. En utilisant le logiciel Excel (version 2010) pour effectuer l'analyse de la variance des moyennes avec le test ANOVA à un facteur.

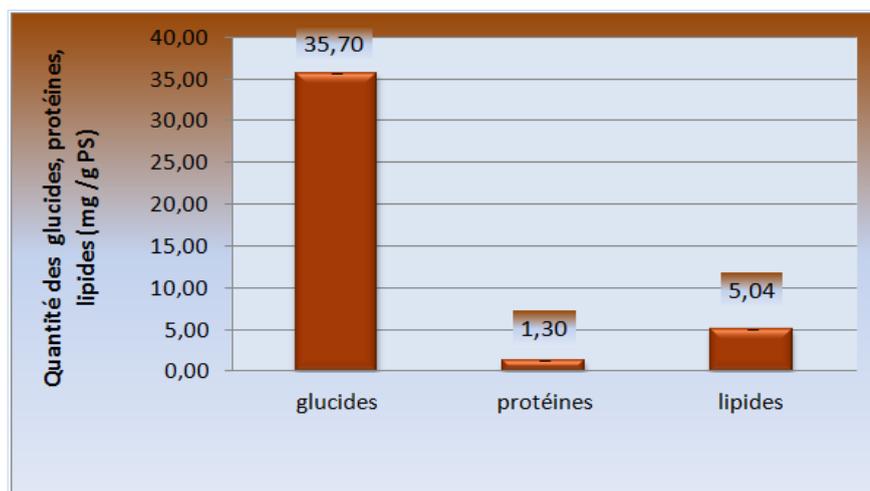
Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence (P<0.05, P<0.01 et P<0.001).

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

### II.1. Dosage des métabolites primaires

Teneurs des glucides, protéines et lipides sont estimées en mg/g de poids sec, les résultats sont présentés ci-dessous.



**Figure 21** : Teneurs en glucides, protéines et lipides de *Matthiola livida* DC.

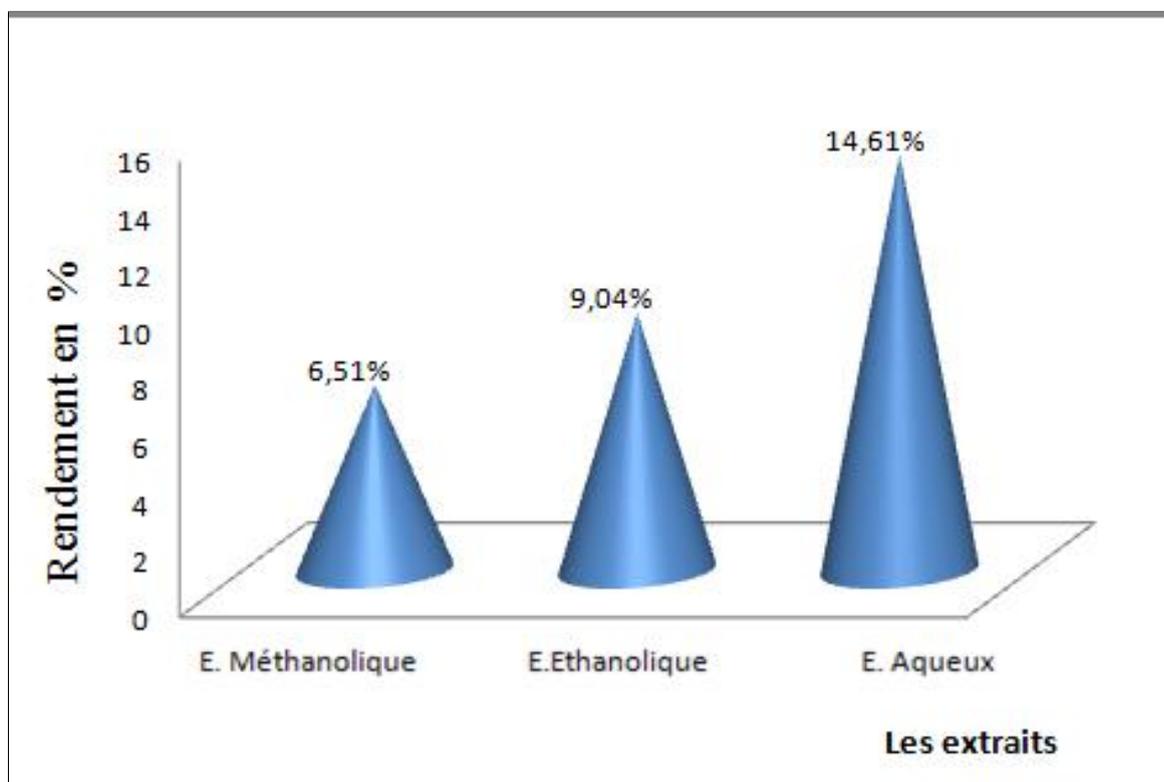
Les résultats obtenus dans la figure 21 montrent que la valeur des glucides est estimée à  $35.70 \pm 0.025$  mg/g PS, la valeur des protéines est estimée à  $1.30 \pm 0.006$  mg/g PS et la valeur des lipides est estimée à  $5.04 \pm 0.025$  mg/g PS.

Les résultats montrent que la plante *Matthiola livida* DC. contient une quantité importante des glucides peut être retour à l'état physiologique lie au stade de développement de plante au la période de la fructification (Mebirouk *et al.*, 2014) sachant qu'ils sont des métabolites primaires donc, ils sont utilisés comme des précurseurs d'autres métabolites secondaires, comme source d'énergie (Youmbai, 2015).

Aussi, une quantité faible pour les lipides et très faible pour les protéines, cette diminution peut-être à cause de différents stress environnemental qui influence sur la physiologie de plante, le stress hydrique avec le temps induit le stress oxydatif qui produit les radicaux libres (شهيدي وآخرون, 2012), le stress oxydatif continu et accru se produit un déséquilibre entre anti-oxydants et oxydants. Ces derniers provoquent l'oxydation des lipides notamment membranaires, ce qui entraîne la perte de leur quantité, endommagent les protéines et inhibition de l'activité enzymatique (Sbartai, 2008), le stress hydrique entraîne une diminution de l'efficacité de la photosynthèse de plante (Hamla, 2016).

## II.2. Rendements des extraits bruts

Le rendement est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction, les valeurs obtenues du rendement des différents extraits sont représentées dans la figure 22.



**Figure 22 :** Rendement d'extraction des différents extraits en %

Les résultats obtenus montrent que parmi les trois extraits, l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé 14.61%, suivi par l'extrait l'éthanolique, 9.04%, alors que l'extrait méthanolique possède le rendement le plus bas 6.51%.

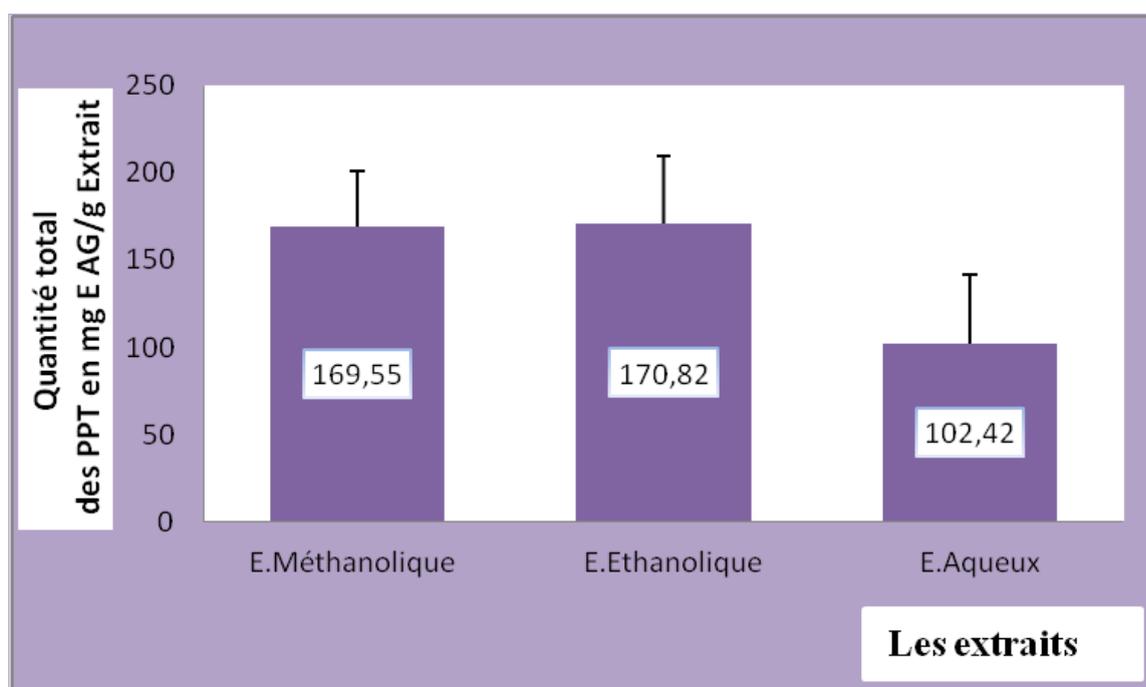
Les variations des rendements d'extraction peuvent être liées à la diffusion des solvants dans la poudre de plante dans l'étape de macération et probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction (Lee *et al.*, 2003; Barroso *et al.*, 2014). Aussi, la taille des particules et la composition chimique des composés dans la plante (Naczki *et Shahidi*, 2004). La diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction (Mahmoudi *et al.*, 2013). En général, d'autres facteurs peuvent influencer l'efficacité de l'extraction à côté de la méthode d'extraction, on cite: le pH, la température, le temps d'extraction (Do *et al.*, 2014).

De nombreuses études ont prouvé que l'ajout d'un pourcentage d'eau aux solvants organiques surtout méthanol et éthanol peut augmenter le rendement, car cette méthode représente le système le meilleur et le plus utilisé pour extraire les composés métaboliques dans la plante car le mélange fonctionne pour augmenter la polarité de la solution et l'attraction des composés polarisés (2015، جيدل).

### II.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

#### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Les résultats des polyphénols totaux des extraits bruts sont présentés ci-dessous.

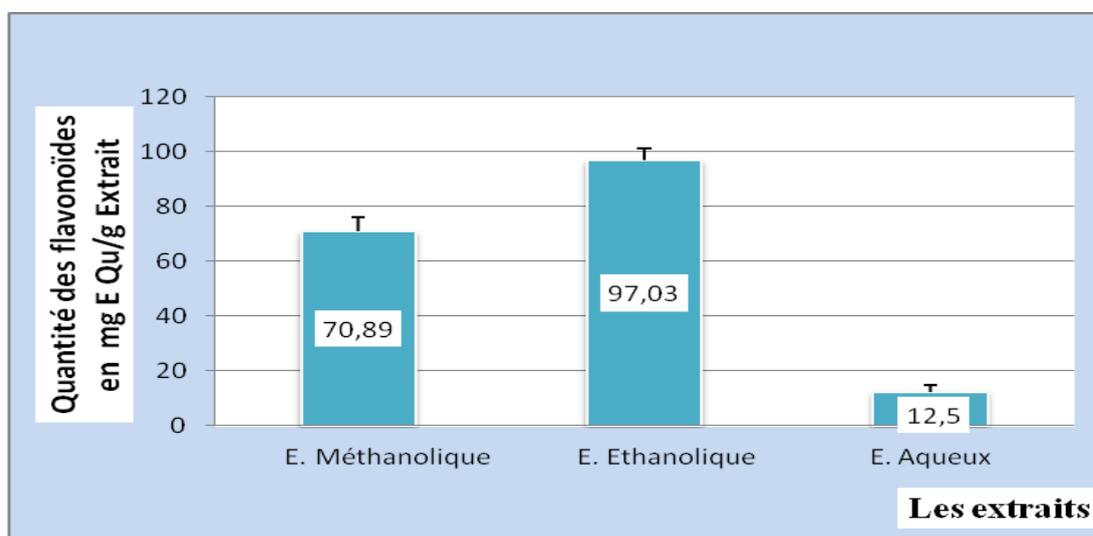


**Figure 23** : Teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts de *Matthiola livida* DC.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 23, on observe une variabilité des teneurs en polyphénols totaux des différents extraits bruts, l'extrait éthanolique donne la teneur la plus élevée ( $170.82 \pm 38.89$  mg E AG/g Ex), suivie par l'extrait méthanolique ( $169.55 \pm 31.47$ mg E AG/g Ex) et l'extrait aqueux ( $102.42 \pm 38.91$ mg E AG/g Ex), ces résultats montrent que tous les extraits de la plante étudié, sont riches en polyphénols totaux. L'analyse statistique test ANOVA (AV1) montre que la différence entre les extraits bruts n'est pas significative (NS) ( $P > 0,05$ ).

## II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les résultats des flavonoïdes des extraits bruts sont présentés ci-dessous.



**Figure 24 :** Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits bruts de *Matthiola livida* DC.

L'histogramme illustré par la figure 24 montre que les teneurs en flavonoïdes varient considérablement entre les différents extraits bruts. Ces résultats montrent que l'extrait éthanolique possède la plus haute teneur en flavonoïdes ( $97.03 \pm 4.14$  mg E Qu /g Ex), suivie par l'extrait méthanolique ( $70.89 \pm 5.33$  mg E Qu /g Ex) et l'extrait aqueux ( $12.5 \pm 2.26$  mg E Qu /g Ex). L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour les teneurs en flavonoïdes montre qu'il y a différence très hautement significative en fonction des extraits bruts (\*\*\*) ( $p < 0.001$ ).

D'après **Hafedh et al. (2019)** la teneur des polyphénols totaux d'extrait éthanolique de feuilles d'*Oudneya Africana* (espèce de la même famille) est égale à  $661.66 \pm 0.08$  mg E AG/g EXS, ce résultat est une valeur supérieure que celle trouvé dans notre étude, en la même étude concernant le dosage des flavonoïdes de l'extrait éthanolique est égale à  $296.28 \pm 1.49$  mg E Q /g EXS. Aussi, ce résultat est très élevé par rapport à nos résultats.

A partir de **Nabti et Belhatta (2016)** la teneur en polyphénols totaux de *Matthiola livida* DC. est supérieur à celle de l'extrait méthanolique d'*Oudneya africana* de taux égal à  $137.16 \pm 3.55$   $\mu$ g E AG /mg EXS, la teneur en polyphénols totaux est inférieur à celle de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* de taux égal à  $108.6 \pm 7.01$   $\mu$ g E AG /mg EXS. En plus, la teneur en flavonoïdes a été enregistré par l'extrait méthanolique d'*Oudneya africana* est égale à  $21.96 \pm 1.02$   $\mu$ g E Q /mg EXS. Ce résultat est plus faible par rapport à nos résultats,

l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* est égale à  $15.62 \pm 0.78 \mu\text{g E Q} / \text{mg EXS}$ , ce résultat est élevé par rapport à nos résultats. Cette variation des teneurs peut être due à plusieurs facteurs tel que l'espèce, les conditions climatiques et environnementales (**Fahmi et al., 2013**). La période, la région de la récolte (**Miliauskas et al., 2004**), les parties analysées, la technique d'extraction et leurs conditions (**Tirichine, 2010; Yeo Sounta et al., 2014**).

A partir des résultats présentés, il existe différences quantitatives des polyphénols totaux et flavonoïdes entre les extraits, Cette variation des teneurs peut être liée aux:

Les composés phénoliques diffèrent dans leurs contenus selon leur structures chimiques d'un extrait à l'autre et changent leurs comportements dans le milieu dans lequel ils sont contenus (**Hayouni et al., 2007**). Plusieurs facteurs qui peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques comme les facteurs extrinsèques (géographiques et climatiques) et intrinsèques (génétiques), mais le degré de maturation de la plante et la durée de stockage à une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (**Cheurfa et Allem, 2015**).

De nombreuses études ont discuté l'effet du solvant sur l'extraction des composés phénoliques, tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'acétate d'éthyle, ont été utilisé pour l'extraction (**Dai et al., 2010**), c'est-à-dire le choix de solvant est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes.

Les résultats obtenus montrent que les différents solvants d'extraction utilisés présentent des différences dans leur capacité à extraire les composés phénoliques de *Matthiola livida* DC. où la solubilité des polyphénols totaux est gouvernée par le type de solvant utilisé (la polarité), leur degré de polymérisation en raison de l'augmentation du nombre de groupements hydroxyles, ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles (**Naczka et Shahidi, 2006; Falleh et al., 2008**).

En outre selon **Zeghad et al. (2019)** des études récentes ont montré que la teneur en polyphénols totaux extraire des plantes était affectée par la polarité du solvant, l'eau et l'éthanol ou le méthanol sont souvent recommandés pour la préparation d'extraits en raison de leur polarité, par conséquent, ils ont été sélectionnés comme solvants dans cette l'étude. Où **Sydney et al. (2016)** a indiqué que l'éthanol est le meilleur solvant l'extraction. Aussi, **Abarca-Vargas et al. (2016)** a indiqué que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols, ces résultats sont identiques à nos résultats obtenus.

Par ailleurs, la méthode d'extraction utilisée (**Lee et al., 2003**), la macération à froid. Selon **Ben Amor (2008)** a indiqué qu'il s'agissait de composés chimiques fragiles, la méthode de la macération peut être adoptée pour extraire la plus grande quantité de composés phénoliques et cela a été similaire à nos résultats.

D'autre part la pureté de l'extrait, si le solvant est susceptible d'extraire des composés non phénoliques tels que les sucres, les protéines et les pigments, en raison de ces composés sont généralement combinés avec d'autres substances qui peuvent influencer pendant l'évaluation de polyphénols totaux et flavonoïdes (**Djeridane et al., 2007**). En général, les formes aglycones fortement hydroxylées des composés phénoliques sont solubles dans les alcools comme l'éthanol et le méthanol (**Riberau-Gayon, 1968**).

En plus, la méthode de quantification peut également influencer à l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003**). Le dosage par le test Folin-Ciocalteu, implique que toutes les molécules réductrices, le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines, ce qui par conséquent rend ce dosage non sélectif vis-à-vis des polyphénols (**Vuorela, 2005; Gomez-Caravaca et al., 2006; Fukushima et al., 2009**).

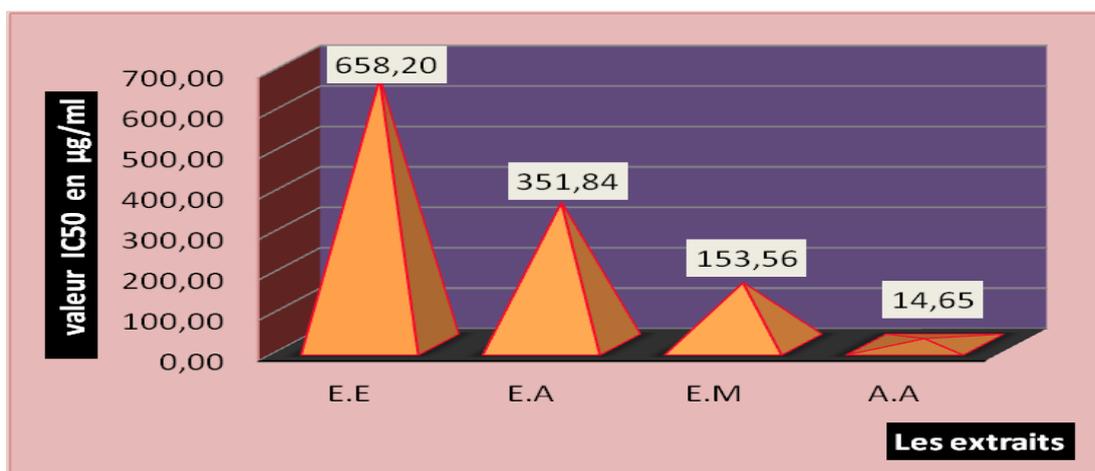
## II.4. Activités biologiques

### II.4.1. Activité antioxydante

#### II.4.1.1. Test de piégeage du radical libre (DPPH)

L'activité antioxydante de les extraits bruts de la plante étudiée vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH<sup>•</sup>) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Dans ce test, on utilise l'acide ascorbique comme standard.

L'activité antioxydante de chaque extrait est exprimée en IC<sub>50</sub>. Ces IC<sub>50</sub> sont calculées par les équations linéaires des pourcentages d'inhibition (I%) en fonction de différentes concentrations des extraits bruts et de standard figures 1, 2, 3 et 4 (annexe2), une valeur faible d'IC<sub>50</sub> indique une activité antioxydante forte. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 25.



**Figure 25 :** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits bruts de *Matthiola livida* DC. et d'acide ascorbique  
 A.A: acide ascorbique, E.E: extrait éthanolique, E.M: extrait méthanolique, E.A: extrait aqueux

D'après les résultats présentés dans la figure 25, montrent que l'acide ascorbique possède une activité antioxydante très puissante par rapport à les extraits bruts avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 14.65 µg/ml. Concernant les extraits, il est observé une variabilité dans les valeurs d'IC<sub>50</sub> où l'extrait méthanolique a une activité antioxydante plus élevée que les autres extraits bruts avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 153.56 µg/ml, suivie par l'extrait aqueux qui possède une IC<sub>50</sub> égale 351.84 µg/ml et l'extrait éthanolique présente l'activité antioxydante plus faible avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 658.20 µg/ml. L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour l'IC<sub>50</sub> montre que la différence entre les extraits bruts n'est pas significative (NS) ( $p > 0,05$ ).

Il est noté que les extraits bruts possèdent des activités anti-radicalaires moins que celle de l'acide ascorbique.

En comparant les résultats obtenus aux études antérieures, l'étude de **Nabti et Belhatab (2016)** trouve que la partie aérienne d'*Oudneya africana* a montré une importante activité antioxydante avec une valeur d'IC<sub>50</sub>=12,05 µg/ml pour l'extrait méthanolique. Ce résultat est supérieur au pouvoir antioxydant par rapport à notre résultat. Aussi d'après **Zebidi et al. (2018)** trouvent que l'IC<sub>50</sub> d'extrait aqueux d'*Oudneya africana* égale 45.41 µg/ml, cette valeur plus faible indiquant une activité antioxydante plus élevée comparée à notre résultat.

Ces résultats indiquent que *Matthiola livida* DC. contient des agents pièges de radicaux libres, Le contenu de polyphénols dans les extraits sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**), plusieurs

études ont montré que l'effet antioxydant est principalement attribuable aux composés phénoliques (Nagavani et Rao, 2010).

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Djahra, 2014), cette capacité anti radicalaire est due à leur pouvoir de donner d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle (Adedapo *et al.*, 2008; Köksal et Gülçin, 2008), le DPPH est un radical stable qui peut accepter l'hydrogène d'un antioxydant pour former une DPPH Réduite (Zakaria et Belhattab, 2016).

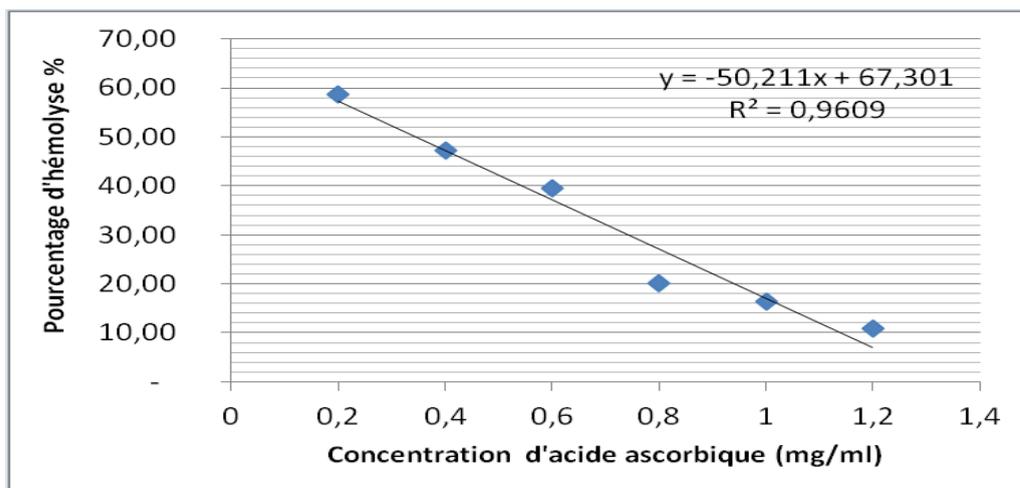
La variabilité d'activité antioxydante entre les extraits pourrait être due à la structure et le type de composés phénoliques dans les extraits et leurs concentrations, plusieurs études antérieures montre présence une relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piégeur des radicaux libres (Popovici *et al.*, 2009), où Rached (2009) signale que le potentiel antioxydant des extraits dépend non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure; c'est le concept de la « relation structure-activité » et de leur qualité de ces composés polyphénoliques, c'est-à-dire pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (Manallah, 2012). L'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre et/ ou la position des groupes hydroxyle autour des structures principales des composés phénoliques et des flavonoïdes (2015 جیدل), les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C et le degré de polymérisation renforcent l'activité antioxydante des flavonoïdes (Cai *et al.*, 2006; Popovici *et al.*, 2009).

D'autre part, Anggraini *et al.* (2019) ont montré que la capacité de piéger du radical DPPH diffère considérablement selon le solvant, qui influence sur la qualité des composés extraits et elle est lié aux les effets antioxydants (2015 جیدل).

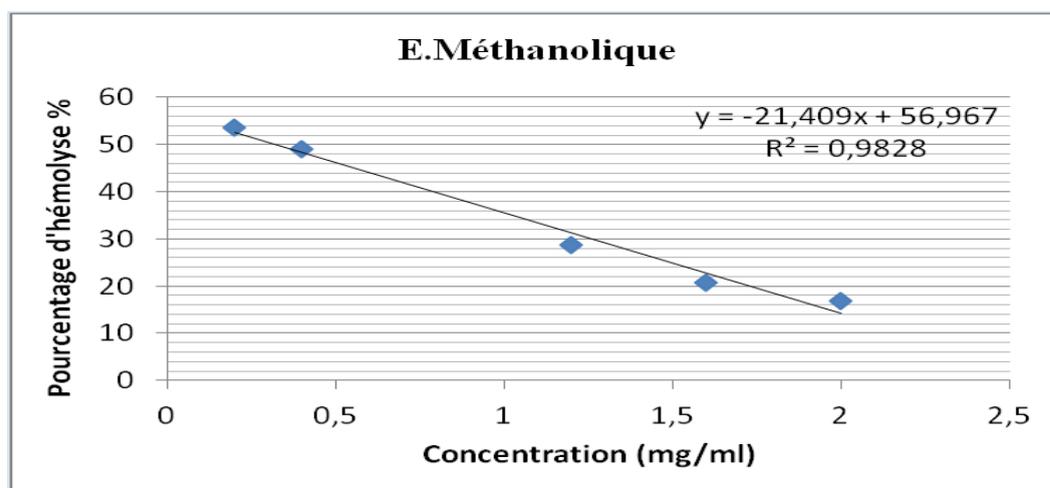
#### II.4.1.2. Test d'hémolyse

Pour estimation de l'activité antioxydant des extraits de plante étudié *in vivo*, le teste d'hémolyse a été adopté comme le test le plus facile et rapide, réalisé sur des érythrocytes humains.

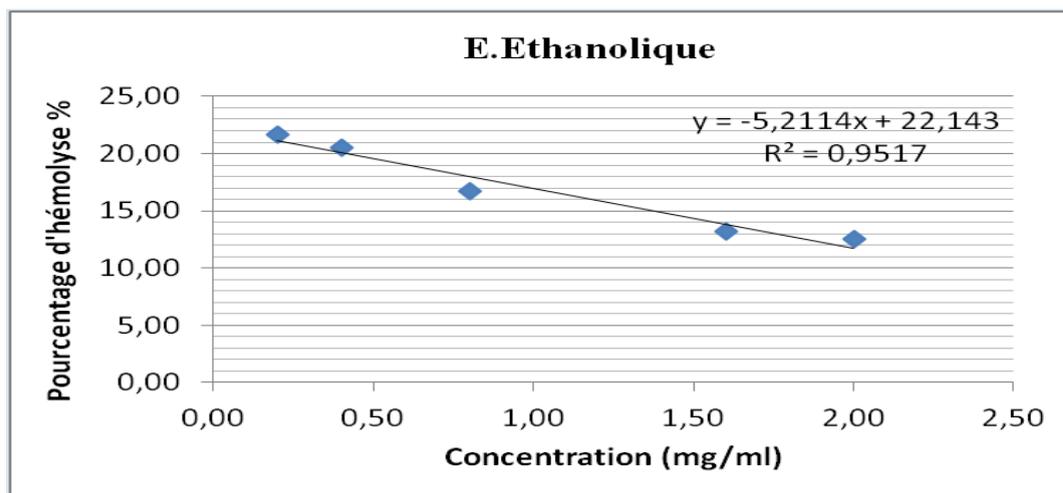
Le pourcentage d'hémolyse a été déterminé dans chaque extrait, l'efficacité est estimée en fonction de l'activité de l'acide ascorbique (figure 26) comme référence standard.



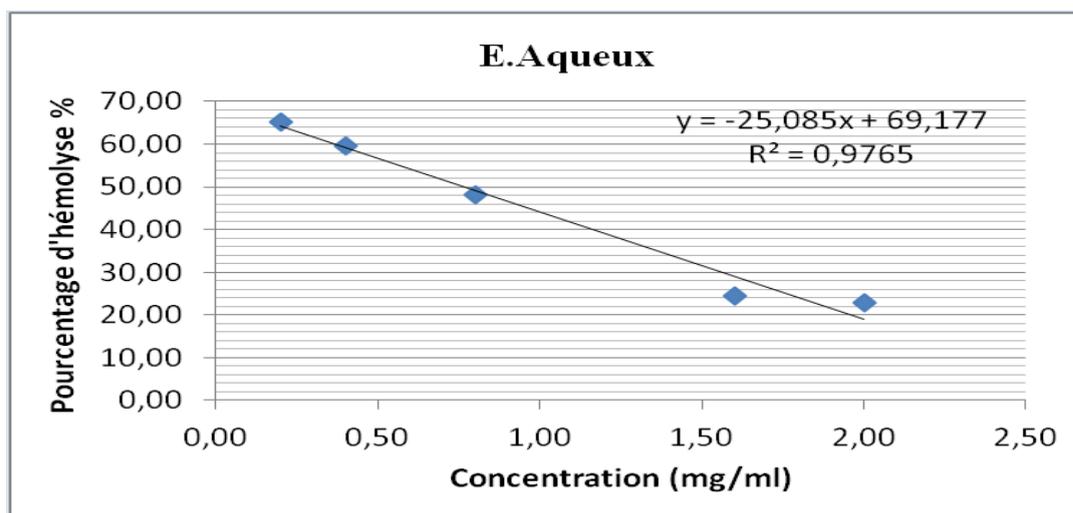
**Figure 26 :** Courbe standard de l'acide ascorbique dans le test d'hémolyse



**Figure 27 :** Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique de *Matthiola livida* DC.

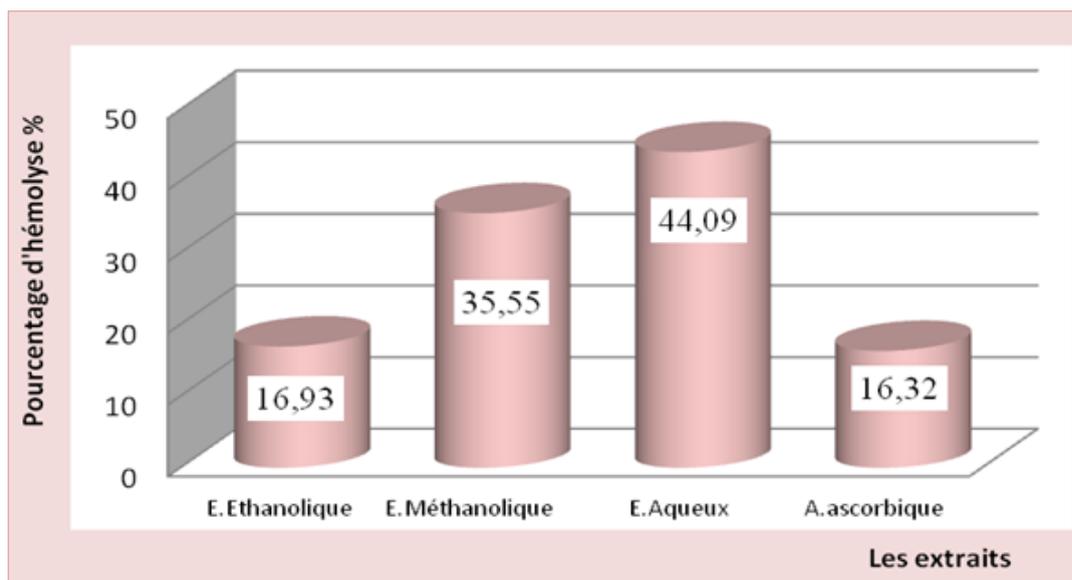


**Figure 28** : Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Matthiola livida* DC.



**Figure 29** : Courbe de pourcentage d'hémolyse % en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Matthiola livida* DC.

A partir des figures 26, 27, 28 et 29 qui montrées les pourcentages d'hémolyse, on remarque une relation inverse entre les concentrations des extraits et pourcentages de l'hémolyse; où la concentration augmente, le pourcentage de l'hémolyse diminue.



**Figure 30 :** Pourcentages d'hémolyse des extraits bruts de *Matthiola livida* DC. et l'acide ascorbique à la concentration de 1mg/ml

A partir des résultats de la figure 30, on observe l'effet protecteur d'hémolyse des extraits bruts et l'acide ascorbique à la concentration 1mg/ml sont différents. L'acide ascorbique présente le pourcentage d'hémolyse le plus faible (16,32%), tandis que les extraits bruts: l'extrait éthanolique est le plus bas (16,93%), suivie par l'extrait méthanolique (35,55%) et le plus élevé est remarqué par l'extrait aqueux (44,09%). L'analyse statistique test ANOVA(AV1) pour les pourcentages d'hémolyse montre qu'il y a une différence significative en fonction des extraits bruts (\*) ( $P < 0,05$ ).

Nous remarquons que l'extrait éthanolique possède la capacité la plus élevée de protection contre l'oxydation des érythrocytes.

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude des interactions entre les oxydants et les antioxydants à cause de leur disponibilité, leur simplicité, la présence d'une concentration très élevée d'acides gras polyinsaturés sur la membrane et le rôle de transport d'oxygène joué par les molécules d'hémoglobine, rend les érythrocytes une cible privilégiée des radicaux libres (Situ *et al.*, 2000; Abirami *et al.*, 2014; Baccarin *et al.*, 2015).

Les radicaux libres provoquent l'oxydation des membranes des érythrocytes, donc leur causant une altération influençant leurs fonctions membranaires, ces déséquilibres sont à

l'origine de l'hémolyse et la libération de contenu les érythrocytes dans le milieu extracellulaire (**Lippi *et al.*, 2006; Portier *et al.*, 2007**).

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) provoque la dégradation de l'hème lorsqu'il est en contact avec l'hémoglobine avec la libération d'ions  $Fe^{2+}$  (**Tebekeme et Diepreye, 2012**), le  $H_2O_2$  stimule la production du radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) en présence de  $Fe^{2+}$  grâce à la réaction de Fenton (**Devjani et Barkha, 2011**). Le  $OH^\bullet$  est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines, formant parfois d'autres radicaux libres (**Barouki, 2006**), il est l'origine d'énorme dégât biologique par peroxydation lipidique (**Chouikh *et al.*, 2018**). L'oxydation radicalaire des acides gras polyinsaturés des membranes plasmiques va altérer leur fonctionnalité (modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'activité d'enzymes, de récepteurs) (**Cillard et Cillard, 2006**). Tous ces facteurs causent la déstabilisation de la membrane des érythrocytes, conduisent à l'hémolyse et la libération d'hémoglobine (**Devjani et Barkha, 2011**).

Les résultats obtenus ont montré qu'il existe une variation d'activité anti-hémolytique entre eux, aussi une variation par rapport au l'acide ascorbique, qui est utilisée comme référence standard. Ces résultats sont proportionnellement similaires avec ceux obtenues dans le test DPPH que la plante a une faible activité antioxydante par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Cette différence d'activité pourra être due à l'effet de la solubilité des composés dans les milieux réactionnels (**Maamri, 2008**), l'activité anti-hémolytique des extraits de plante peut être due aux les composés bioactifs tel que les composés phénoliques. En effet, plusieurs études ont démontré la capacité des composés phénoliques pour protège les érythrocytes contre les stress oxydatif (**Valente *et al.*, 2011**), les composés polyphénoliques donnent des électrons au peroxyde d'hydrogène, le neutralisant ainsi en molécule d'eau (**Afsar *et al.*, 2016**). Il peut être aussi due à l'interaction des flavonoïdes avec les membranes cellulaires qui sont les sites de peroxydations lipidiques (**Chaudhuri *et al.*, 2007**), les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (**Cherrak, 2017**).

Selon **Chouikh *et al.* (2018)** les composés phénoliques exercent leur effets protecteurs grâce à leur rôle comme capteurs des radicaux libres, ou supprimeurs des agents oxydants ou indicateurs d'activation les enzymes responsables de la détoxification. De plus, les

polyphénols sont connus comme chélateurs de métaux de transition tels que le  $\text{Fe}^{2+}$  réduisant ainsi la vitesse de réaction de Fenton. Ils peuvent aussi empêcher les oxydations causées par le radical hydroxyle hautement réactif (Tsao, 2010).

#### II.4.2. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits bruts de *Matthiola livida* DC. est estimée par un test *in vitro* pour voir la capacité des extraits à empêcher la dénaturation thermique de Bovine sérum albumine (BSA). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 31.

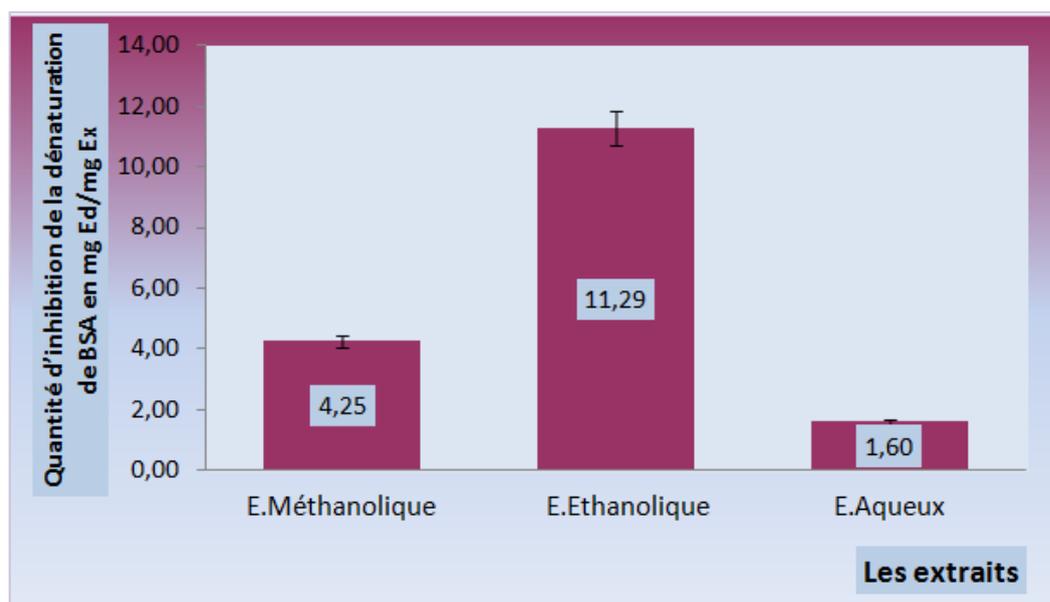


Figure 31 : Quantité d'inhibition de la dénaturation de sérum bovine albumine (BSA)

L'histogramme illustré par la figure 31 montre que la quantité d'inhibition de la dénaturation de protéine (BSA) varie considérablement entre les différents extraits bruts de *Matthiola livida* DC. Ces résultats montrent que l'extrait éthanolique possède la quantité d'inhibition plus haute estimée ( $11.29 \pm 1.10$  mg Ed/mg Ex), suivie l'extrait méthanolique ( $4.25 \pm 0.18$  mg Ed/mg Ex) et l'extrait aqueux ( $1.60 \pm 0.11$  mg Ed/mg Ex). L'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour la quantité d'inhibition de la dénaturation de BSA montre qu'il y a une différence très hautement significative en fonction des extraits bruts (\*\*\*) ( $P < 0,001$ ).

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tridimensionnelles par l'application d'agents physiques ou chimiques (un stress externe d'un composé tel que l'acide ou base fort, un sel inorganique concentré, pH, solvants organiques et la chaleur) dont la plupart des protéines perdent leur fonction biologique

lorsqu'elles sont dénaturées (Nair, 2009). Les protéines dénaturées sont parmi les causes de la réaction inflammatoire (Mizushima *et al.*, 1968). Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (Nathalie *et al.*, 2006), la BSA est sensible à l'élévation de la température qui conduit à une diminution de sa solubilité (Borzova *et al.*, 2016; Jaenicke, 1967).

L'activité inhibitrice de la dénaturation de BSA est peut-être attribuée à la présence de différents composés bioactifs tels que les polyphénols dans les extraits (Owoyele *et al.*, 2010), des études antérieures suggèrent que l'effet inhibiteur des extraits peut être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines comme l'albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine. Ils ont également signalé que des molécules thérapeutiques peut réactiver le récepteur riche en motifs de Tyrosine, avec de la Thréonine, qui régulent les voies biologiques de la transduction du signal pour leur action biologique globale (Duganath *et al.*, 2010; Heendeniya *et al.*, 2018).

## II.5. Etude statistique

On a utilisé test d'analyse de corrélation (Test Pearson Linear Correlation Coefficient) pour déterminer le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) et le sens de la relation de corrélation entre les variables étudiées, les résultats représentés dans le tableau 7.

**Tableau 7:** Le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) entre les différentes variables étudiées

	Rendements	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Hémolyse	Anti-inflammatoire
Rendements	1	/	/	/	/	/
Polyphénols totaux	-0,947	1	/	/	/	/
Flavonoïdes	-0,815	0,958	1	/	/	/
DPPH	-0,544	0,246	-0,041	1	/	/
Hémolyse	0,501	-0,752	-0,909	0,452	1	/
Anti-inflammatoire	-0,462	0,722	0,890	-0,492	-0,998	1

D'après les résultats obtenus, on observe la présence d'une forte corrélation inverse entre les rendements et les teneurs en polyphénols totaux ( $R^2=-0,947$ ) aussi, une moyenne corrélation entre les rendements et les teneurs en flavonoïdes ( $R^2=-0,815$ ), le DPPH ( $R^2=-0,544$ ), l'hémolyse ( $R^2=0,501$ ) et l'activité anti-inflammatoire ( $R^2=-0,462$ ).

Les résultats ont montré une forte corrélation positive entre les teneurs en polyphénols totaux et les teneurs en flavonoïdes des extraits bruts ( $R^2=0,958$ ), ceci est expliqué par les flavonoïdes représentent un groupe de polyphénols totaux (**Belyagoubi, 2012**) donc, cette corrélation positive est causée par la relation de l'ensemble avec la partie où plus la quantité de l'ensemble est élevée, plus la quantité de la partie est augmenté.

Du même tableau, il existe une faible corrélation entre la capacité du piégeage du DPPH et les teneurs en polyphénols totaux ( $R^2=0,246$ ) et il n'y a pas de corrélation avec les teneurs en flavonoïdes ( $R^2 = -0,041$ ), ceci est expliquée par la relation n'est pas quantitative seulement mais la relation est qualitative, l'activité antioxydante de polyphénols spécifiquement de flavonoïdes dépend généralement de leur structure chimique et de leur qualité (**Adida et al., 2015**).

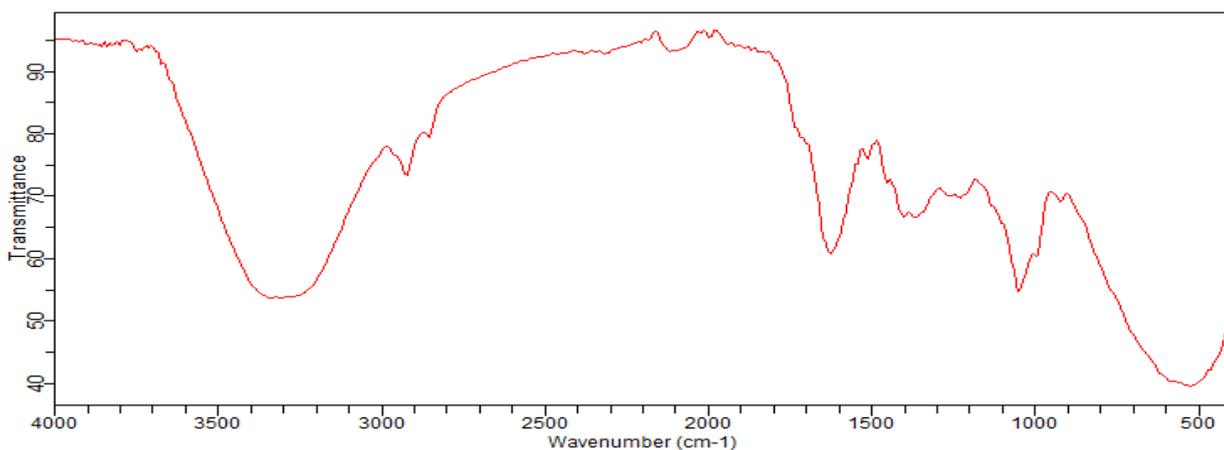
Nous remarquons aussi la présence d'une corrélation inverse entre l'hémolyse et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes ( $R^2=-0,752$ ;  $R^2=-0,909$  respectivement), cela est dû au le rôle actif des polyphénols totaux surtout des flavonoïdes (forte corrélation) qui possèdent l'effet anti-hémolytique et protège les hématites contre l'oxydation (Valente et al., 2011; Cherrak, 2017) par conséquent, toute augmentation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est compensée par une diminution de l'hémolyse des globules rouges et le contraire est vrai.

Il existe une moyenne corrélation positive entre le DPPH et l'hémolyse ( $R^2=0,452$ ) aussi, une corrélation inverse entre-il et l'activité anti-inflammatoire ( $R^2=-0,492$ ). D'autre part, il existe d'une forte corrélation inverse entre l'hémolyse et l'activité anti-inflammatoire ( $R^2=-0,998$ ).

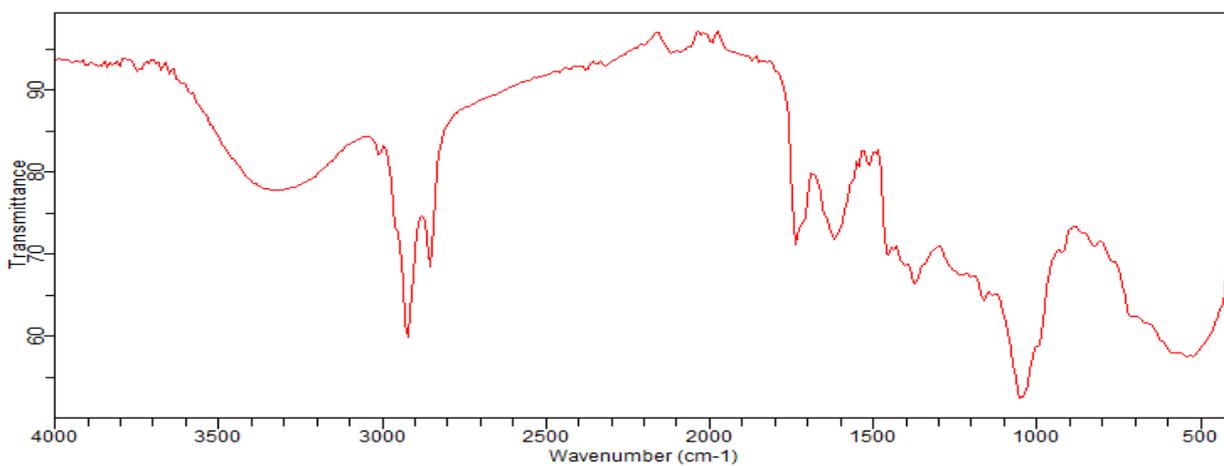
En revanche, on remarque une corrélation positive entre l'activité anti-inflammatoire et les teneurs en polyphénols totaux et les teneurs en flavonoïdes ( $R^2 = 0,722$ ;  $R^2=0,890$  respectivement), cela est expliqué que l'activité anti-inflammatoire des extraits bruts est due à leurs quantités de polyphénols totaux et flavonoïdes qui possèdent cette activité inhibitrice de la dénaturation des protéines (**Owoyele et al., 2010**).

## II.6. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge (IR)

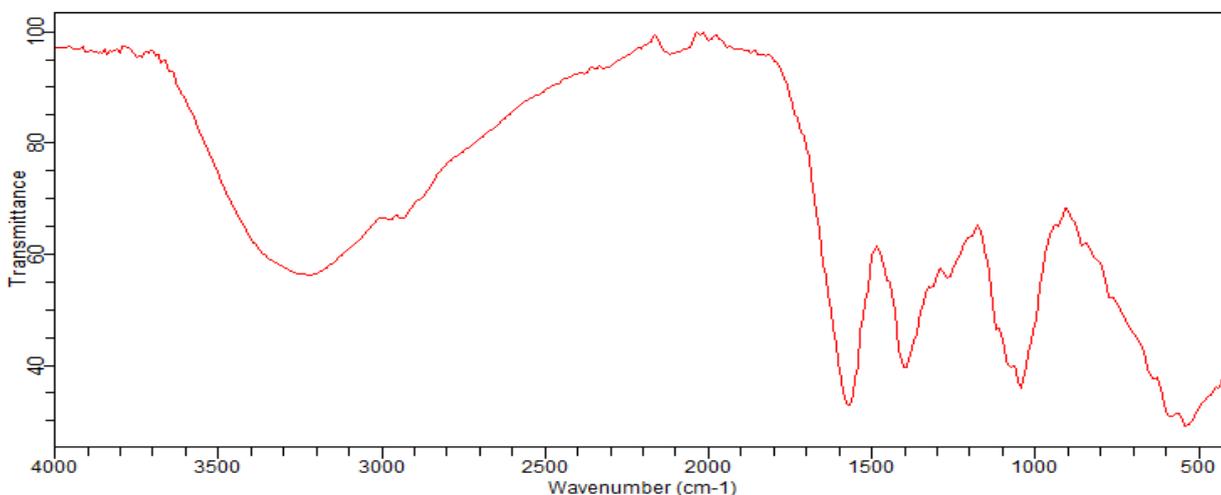
L'analyse par spectroscopies IR servent à identifier des liaisons chimiques dans les molécules organiques. Ils permettent de déterminer ces fonctions chimiques. Les spectres d'IR suivant présentent les liaisons on peut trouver dans nos extraits bruts.



**Figure 32 :** Spectre d'IR d'extrait méthanolique de *Matthiola livida* DC.



**Figure 33 :** Spectre d'IR d'extrait éthanolique de *Matthiola livida* DC.



**Figure 34 :** Spectre d'IR d'extrait aqueux de *Matthiola livida* DC.

A partir de figures 32, 33 et 34, les spectres obtenus ont montré la présence de différents groupes fonctionnels caractéristiques de trois extraits bruts. On peut résumer les résultats dans le tableau 8.

**Tableau 8 :** Interprétation des spectres d'IR des extraits bruts de *Matthiola livida* DC.

Liaison	Fonction ou famille	Nombre d'onde $\text{cm}^{-1}$	L'intensité	Plus abondant dans l'extrait
O-H	Alcool	3350	Forte, large	trois extraits
C-H	Groupement	2850-3000	Forte	éthanolique
C=O	Carbonyle	1650-1730	Forte	méthanolique éthanolique
C=C	Groupement	1400-1600	Moyenne	aqueux
C-O	Alcool	1050	Forte	éthanolique, aqueux
C-H	Aromatique	690-710	Forte	méthanolique aqueux

Sur la base des données précédentes, il est possible que l'activité antioxydante remarquable d'extraits bruts, soit due à la présence de substances ayant des groupes hydroxyles (O-H). Dans ce contexte, les flavonoïdes possèdent une structure idéale pour le balayage des radicaux libres, car ils présentent un nombre de groupes hydroxyles agissant comme donateurs d'hydrogène (Usmani *et al.*, 2013). Généralement, l'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols avec leur nombre élevé de groupements hydroxyles présentent pour stabiliser les radicaux libres (Adedapo *et al.*, 2008; Popovici *et al.*, 2009).

Selon Mburu *et al.* (2016), le groupe C=C est principalement présenté par les flavonoïdes, peut le C-O indique la présence de glycosides qui est sous forme C-O-C glycosidique.

C=O est une fonction carbonyle caractérise en générale les aldéhydes, les cétones (Belboukhari *et al.*, 2013), C-H de nombre d'onde 2850-3000  $\text{cm}^{-1}$  est appartient au le cycle benzoïque qui former l'élément structural fondamental des flavonoïdes (2013، حمد و حسام) et la liaison C-H aromatique de nombre d'onde 659-710  $\text{cm}^{-1}$  peut retour à les substituants de cycle aromatique (Easmin *et al.*, 2017).

Comparaison entre les extraits, on trouve la liaison O-H est disponible dans les trois extraits méthanolique, éthanolique et aqueux. Le groupement C-H est plus abondant dans l'extrait éthanolique et le groupement C=C dans l'extrait aqueux. Aussi, la fonction carbonyle C=O est plus abondant dans l'extrait méthanolique et éthanolique qui caractérise en générale les aldéhydes, les cétones et le C-O est dans l'extrait éthanolique et aqueux. La liaison C-H aromatique est plus abondant dans l'extrait méthanolique et aqueux.

# **Conclusion**

## Conclusion

---

Ces dernières années, il y a eu un intérêt pour la valorisation des plantes spontanées, notamment locales, et leur exploitation dans plusieurs domaines en fonction de leurs composés. Notre travail a été pour l'objectif d'étude phytochimique et l'activité biologique (antioxydante et anti-inflammatoire) des extraits bruts de la partie aérienne de *Matthiola livida* DC. qui vise à valoriser une des plantes sahariennes qu'est poussée dans la région d'Oued Souf.

Les résultats de la teneur en métabolites primaires après une préparation des extraits de poudre végétale est constituée de  $35.70 \pm 0.025$  mg/g PS de glucides,  $1.30 \pm 0.006$  mg/g PS de protéines et  $5.04 \pm 0.025$  mg/g PS de lipides.

L'extraction par la méthode de macération en utilisant des trois solvants a donné des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux avec rendement 6.51%, 9.04% et 14.61% respectivement. La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique donne la teneur la plus élevée ( $170.82 \pm 38.89$  mg E AG/g Ex), suivie par l'extrait méthanolique ( $169.55 \pm 31.47$  mg E AG/g Ex) et l'extrait aqueux ( $102.42 \pm 38.91$  mg E AG/g Ex).

En parallèle, le dosage de flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  a révélé que l'extrait éthanolique possède la plus haute teneur en flavonoïdes ( $97.03 \pm 4.14$  mg E Qu/g Ex), suivie par l'extrait méthanolique et aqueux ( $70.89 \pm 5.33$  mg E Qu /g Ex), ( $12.5 \pm 2.26$  mg E Qu /g Ex) respectivement.

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée en utilisant le test de DPPH<sup>\*</sup> et le test d'hémolyse. Les résultats du DPPH<sup>\*</sup> montrent que l'extrait méthanolique qui a une activité antioxydante plus élevée à les autres extraits d'une valeur ( $IC_{50} = 153.56$  µg/ml), suivie par l'extrait aqueux et éthanolique ( $IC_{50} = 351.84$  µg/ml ;  $IC_{50} = 658.20$  µg/ml) respectivement, mais restent relativement faible par rapport à celui de l'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif, le test d'hémolyse montre que l'extrait éthanolique donne la meilleure protection de érythrocytes humains (16.93% d'érythrocytes dissous chez la concentration 1 mg/ml) alors que l'extrait méthanolique et aqueux ont été enregistrés les valeurs 35.55% et 44.09% respectivement.

## Conclusion

---

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits bruts est testée par la méthode de l'inhibition de dénaturation des protéines. La valeur plus élevée obtenue chez l'extrait éthanolique ( $11.29 \pm 1.10$  mg Ed/mg Ex) et ( $4.25 \pm 0.18$  mg Ed/mg Ex et  $1.60 \pm 0.11$  mg Ed/mg Ex) pour les extraits méthanolique et aqueux respectivement.

L'étude statistique par test Pearson Linear Correlation Coefficient montre que présence des corrélations positive entre les teneurs en polyphénols totaux et les teneurs en flavonoïdes, entre l'activité anti-inflammatoire et les teneurs en polyphénols totaux et les teneurs en flavonoïdes aussi, entre les tests l'hémolyse et le DPPH. D'autre part, présence des corrélations inverse entre l'hémolyse et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes et entre l'activité anti-inflammatoire et les tests d'hémolyse et DPPH.

L'analyse par spectroscopie IR permette de déterminer les fonctions chimiques on peut trouver dans nos extraits bruts.

À partir de ces résultats, on peut conclure que l'étude phytochimique de *Matthiola livida* DC. montre cette plante est riche en polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes. Aussi, on peut dire que les différents extraits possèdent une activité antioxydante et activité anti-inflammatoire, cette activité se diffère de l'extrait à une autre selon le solvant d'extraction qui influence sur la nature des composés présents dans les extraits et leurs efficacités sur l'activité biologique.

Au terme de ce travail, il est souhaitable d'évaluer l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire par d'autres méthodes, que ce soit *in vitro* ou *in vivo*, ainsi que d'effectuer d'autres tests pour évaluer d'autres activités biologiques telles que l'activité anticancéreuse, antidiabétique et antimicrobienne. Aussi, des autres techniques plus précises comme HPLC, Spectroscopie de masse...etc. seraient souhaitable pour identifier les composants responsables des activités biologiques.

# **Références**

## **bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- Abarca-Vargas, R., Pena Malacara, C.F. & Petricevic, V. L. (2016).** Characterization of chemical compounds with antioxidant and cytotoxic activities in *Bougainvilleax buttiana* Holttum and Standl, (var. Rose) extracts. *Antioxidants*, 5(45): 1-11.
- Abirami, A., Gunasekaran, N. & Perumal, S. (2014).** In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3: 18-22.
- Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation: Extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse en Co-Tutelle pour l'obtention du grade de docteur en Sciences Alimentaires non publié, Université Abderrahmane Mira-Bejaia et université d'Avignon, Français.
- Adedapo, A.A., Jimoh, F. O., Afolayan, A. J. & Masika, P.J. (2008).** Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complement Altern Med. The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR)*. 8(54): 1-7.
- Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E. & Djaziri, R. (2015).** Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14(4): 207-212. doi:10.1007/s10298-015-0932-4
- Afsar, T., Razak, S., Khan, M. R., Mawash, S., Almajwal, A., Shabir, M. & Ihsan, U. (2016).** Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydasypica* R. Parker aerial parts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16(1): 1-16. doi 10.1186/s12906-016-1240-8
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Arab, L. & Chaouch, A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne de huiles essentielles de *Tymus algeriensis* Boiss, et *Reut*, et *Tymus ciliatus* (Desf.). Benh. Du Maroc. *biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14(1): 141-148.
- Anggraini, T., Wilma, S., Syukri, D. & Azima, F. (2019).** Total phenolic, anthocyanin, catechins, DPPH radical scavenging activity, and toxicity of *lepisanthos alata* (Blume) Leenh. *International Journal of Food Science*, 2019: 1-7. doi:10.1155/2019/9703176
- Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, photochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat en chimie organique non publié, Université de Bamako, Bamako.
- Baccarin, T., Mitjans, M., Lemos-Senna, E. & Vinardell, M. P. (2015).** Protection against oxidative damage in human erythrocytes and preliminary photosafety assessment of *Punica*

## Références bibliographiques

---

*granatum* seed oil nanoemulsions entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction. *Toxicology in Vitro*, 30(1): 421-428. doi:10.1016/j.tiv.2015.09.020

**Barouki, R. (2006).** Stress oxidant et vieillissement. *Medecine/Sciences*, 22: 266-72.

**Barrosoa, M.R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I.P., Barreiro, M.F. & Ferreira, I.C.F.R. (2014).** Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. *Ind Crops Prod*, 53: 330-336.

**Beitlakhdar, J. (1997).** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc: la situation actuelle, les produits' les sources du savoir enquêtée thnopharmacologique terrain réalisée de 1969 à 1992. Thèse de doctorat non publiée, Université de Metz, Metz.

**Belbache, H. (2003).** Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf. Mémoire de magister en chimie organique non publié, université Frères Mentouri, Constantine.

**Belboukhari, N., Merzoug, Z. A., Cheriti, Z. K., Sekkoum, Z. & Yakoubi, M. (2013).** Etude de la caractérisation et la composition qualitative des huiles essentielles de six plantes médicinales par spectroscopie IR. *PhytoChem & BioSub Journal*, 7(1): 2170-1768.

**Beldi, H. (2007).** Etude de *Gambusia affinis* (poisson, téléostéen) et *Donax trunculus* (mollusque, pélécy-pode): Ecologie, physiologie et impacts de quelques. Thèse de doctorat non publié, Université Badji Mokhtar, Annaba.

**Bellebcir, L. (2008).** Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de magister option biodiversité et production végétale non publié, Université Frères Mentouri. Constantine.

**Belyagoubi-Benhammou, N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie non publié, Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.

**Benabdelkader, T. (2012).** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat en biologie et ecophysiologie végétale. Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger non publié, Algérie et l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France.

**Ben Amor, B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée

## Références bibliographiques

---

(DIC). Thèse de doctorat en génie des procédés industriels non publié, Université de la Rochelle, Français.

**Benayache, F. (2005).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae): *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de doctorat en chimie organiques non publié, Université Frères Mentouri, Constantine.

**Benhamama, L. (2015).** Contribution à l'étude photochimique et évaluation de l'activité antioxydant de la plante médicinale *Crataegus monogyna*. Mémoire de Master en Biologie et physiologie végétales non publié, Université des Frères Mentouri, Constantine.

**Benhammou, N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie non publié, Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.

**Benmoussa, L., Bessas, A. & Kerarma, M. (2008).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie option: contrôle de qualité et analyses non publié, Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès.

**Berhail, B.H. (2014).** Etude phytochimique et biologique des espèces *Biscutella raphanifolia*, *Zilla macroptera*, *Inula graveolens* et *Inula viscosa*. Thèse de doctorat troisième cycle (LMD) spécialité chimie pharmaceutique non publié, Université Frères Mentouri Constantine.

**Berghioua, A., Cheriti, A., Belboukhari, N. & Marouf, A. (2009).** Aperçu ethno-pharmacologique et chimique des Brassicaceae. *Annales de l'Université de Bechar*, 5(1): 1112-6604.

**Berreghioua, A. (2016).** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud Algérien: *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse doctorat non publié, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.

**Bhat, S. V., Nagasampagi, B. A. & Sivakumar, M. (2005).** *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India.

**Bnouham, M., Ziyat, A. Mekhfi, H., Tahri, A. & Legssyer, A. (2006).** Medicinal plants with potential antidiabetic activity - A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *Int J Diabetes & Metabolism*, 14: 1-25.

**Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le Cahier Des Techniques De l'Inra*, 79-82.

**Bokhari, J., Khan, M. R, Shabbir, M., Rashid, U., Jan S. & Zai, J.A. (2013).** Evaluation of diverse antioxidant activities of *Galium aparine*. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 102: 24-29.

## Références bibliographiques

---

- Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassilova, E. & Saykova, I. (2012).** etude de l'extraction de composés phénoliques a partir de pellicules d'arachide (*Arachis Hypogaea* L.). *Revue de Génie Industriel*, 7: 35-45. En Ligne : [Http://Www.RevueGenie-Industriel.Info](http://www.RevueGenie-Industriel.Info)
- Borzova, V. A., Markossian, K. A., Chebotareva, N. A., Kleymenov, S. Y., Poliansky, N. B., Muranov, K. O. & Kurganov, B. I. (2016).** Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PLOS ONE*, 11(4): 1-29.
- Boubekri, C. (2014).** Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en chimie non publié, Université Mohamed Khider, Biskra.
- Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister en biochimie non publié, université Ferhat Abbas, Sétif.
- Boue, C., Sourdin, C., Delmond F. & Chable, V. (2013).** La production de semences de Brassicacées. *Maquette AgroBio Périgord*, (24).
- Bougandoura, N. & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, 9: 14-19.
- Brand-Williams, W., Cuperlier, ME. & Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.*, 28: 25-30.
- Brudieux, V. (2007).** Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermo-cosmétique. Thèse de doctorat non publié, Université de Limoges, France.
- Bruneton, J. (1993).** *Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales*. (2e édition), Lavoisier, Paris.
- Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3ème Edition). Paris: Lavoisier.
- Cai, Y. Z., Mei, S., Jie, X., Luo, Q. & Corke, H. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78(25): 2872-2888. doi:10.1016/j.lfs.2005.11.004
- Calancea, M. (2008).** Approche Générale et Efficace des Terpénoïdes Possédant le Squelette Bicyclo [5.3.0] décane: Synthèse de Sesquiterpènes (Aromadendranes, Guaianes et Tri-nor-guaianes) et Approche des Diterpènes. Thèse de doctarat en chimie organique non publié, Universite Joseph Fourier, Grenoble.

## Références bibliographiques

---

- Cillard, J. & Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL*, 13 (1): 24-29.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3): 178-182.
- Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B. & Sengupta, P.K. (2007).** Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41: 42-48.
- Cherrak, S. A. (2017).** Etude in vitro de l'effet antioxydant des complexes Flavonoïdes-Métaux: Relation structure activité. Thèse de doctorat en Biologie non publié, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.
- Cheurfa, M. & Allem, R. (2015).** Evaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3): 181-187.
- Chouikh, A., Adjal, E.H., Mekki, M., Hemmami, H., Feriani, A., Rebiai, A., Zaater, A. & A. Chefrou. (2016).** Comparison of ultra-sound and maceration extraction methods of phenolics contents and antioxidant activities of Saharian medicinal plant *Calligonum comosum*. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(6): 2235-2239.
- Chouikh, A., Alia, F., Neffar, S., Rebiai, A., Adjal, E. & Chefrou, A. (2018).** Evaluation of phenolic contents (quantitative and qualitative) and antioxidant activities in different physiological phases of *Genista saharae* Coss. & Dur. Growing in the Sahara of Algeria. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, 25(2) :115-121.
- Chouikh, A., Feriani, A., Adjal, E.H. & A. Chefrou. (2015).** Phytochemicals study, antioxidant and antimicrobial activities of *Helianthemum lippii* (L.) Pers. in different stages of growth (somatic, flowering and fruiting). *World J Pharm Pharm Sci*, 4(11): 338-349.
- Chouikh, A. & Rebiai, A. (2020).** The influence of extraction method on the composition and analgesic activity of *Calligonum comosum* phenolic extracts. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31(1): 33-37.
- Collin, S. & Creast G. (2011).** *Polyphynol Et Procédé* (1ère Ed).Paris: Lavoisier.
- Cozzolino, D. (2009).** Near infrared spectroscopy in natural products analysis. *Planta Med*, 75: 746-756.
- Cowan, N. M. (1999).** Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- Dai, J. & Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15: 7313-7352.

## Références bibliographiques

---

- Devjani, C. & Barkha, S. (2011).** Antimicrobial, anti-oxidative and anti-hemolytic activity of piper betel leaf extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3: 192-199.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F. & Stocker, P. (2007).** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol*, 801-809.
- Djahra, A. B. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, anti-hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat en biologie végétale non publié. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Djehghader, N. E. H. (2014).** Impact d'un régulateur de croissance des insectes, novaluron sur *Culex pipiens*, aspects: développemental, structural et hormonal. Thèse de doctorat physio-toxicologie non publié, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.
- Dolci, A. & Panteghini, M. (2014).** Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible?. *Clinica Chimica Acta*, 432:38-43.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on totalphenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3): 296-302.
- Duganath, N., Kumar, R. S., Kumanan, R. & Jayaveera, K. R. (2010).** Evaluation of antidenaturation property and anti-oxidant activity of traditionally used medicinal plants. *Int. J. Pharma Bio Sci., IJPBS*, 1: 1-7.
- Dubois, M. K., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28: 350-356.
- Easmin, S., Sarker, M. Z. I., Ghafour, K., Ferdosh, S., Jaffri, J., Ali, M. E. & Khatib, A. (2017).** Rapid investigation of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Phaleria macrocarpa* extracts using FTIR-ATR based fingerprinting. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2): 306-315.
- Elias, G. & Rao, M. N. (1988).** Inhibition of albumin denaturation and anti-inflammatory activity of dehydrozingerone and its analogs. *Indian Journal of Experimental Biology*, 26(10): 540-542.

## Références bibliographiques

---

- El Rabiai, G. T. (2015).** Systematic consideration of petiole anatomy of some taxa of Brassicaceae in Libya. *Botany Research International*, 8 (2): 36-40.
- El -Tahchy, A. (2010).** Étude de la voie de biosynthèse de la galanthamine chez *Leucojum aestivum* L. et criblage phytochimique de quelques Amaryllidaceae. Thèse de doctorat en chimie non publié, Université Henri Poincaré, Nancy-Université, France.
- Emerenciano, V. P., Barbosa, K. O., Scotti, M. T. & Ferriro, M. J. P. (2007).** Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: A classification of tribes using flavonoid data. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 18 (5): 891-899.
- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L. & Curini, M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68: 939- 953.
- Fahmi, F., Tahrouch, S. & Hatimi, A., (2013).** Geoclimatic influences on flavonoids contents of the leaves of the argan tree influences géoclimatiques sur la composition en flavonoides des feuilles de L'Arganier *Argania Spinosa*. *J. Mater. Environ. Sci.*, 4 (6): 881-886.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 372-379.
- Fellous, A. (2003).** La station d'élevage de la gazelle dorcas (gazelle dorcas) dans le sudouest algérien. IIème séminaire antilopes sahelo saharienne, 1-5 mai 2003, agence nationale pour la conservation de la nature. Maroc: Agadir.
- Ferradji, A. (2011).** Activités anti oxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire de magister biochimie appliquée non publié, Université Ferhat Abbas, Setif.
- Foley, P. B. (2003).** *Beans, roots, and leaves: a history of the chemical therapy of Parkinsonism*. Marburg: Tectum Verlag.
- Ford, R. A., Hawkins, D. R., Mayo, B. C. & Api, A. M. (2001).** The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteer rsun dersimulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology* 39: 153-162.
- Fukushima, Y., Ohie, T., Yonekawa, Y., Yonemoto, K., Aizawa, H., Mori, Y. & Et-Kondo, K. (2009).** Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4): 1253-1259.
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011).** Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31): 6697-6703.

## Références bibliographiques

---

- Ghedjati, N. (2014).** Toxicité aigue et subaigüe des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du *Datura stramonium*. Mémoire magister en Biologie non publié, Université Ferhat Abbas, Sétif.
- Goldsworthy, A. C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen Comp Endocrinal*, 18: 306-314.
- Gomez-Caravaca, A. M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. & Fernandez-Gutierrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41(4): 1220-1234.
- Guignard, J. L. (1998).** *Abrégé de botanique*. Paris.
- Hadjali, I. (2017).** Contribution à l'étude phytochimique des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) des feuilles de *Carlina acaulis* L. (Tafgha) de la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Biologie non publié, Université Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Hadri, G. N. (2016).** Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes *Sedum villosum* L. (Orpin.) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.). Thèse de doctorat en Biologie cellulaire et Biochimie non publié, Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Hafedh, H., Soumaya, A., Hedi, M., Mouna, C., Néji, G., Gaspar, R., Gema, N. & Adel, K. (2019).** Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity Of *Oudneya Africana* L. Leaves Extracts: Evaluation Effects on Fatty Acids and Proteins Oxidation of Beef Burger during Refrigerated Storage. *Antioxidants Basel*, 8, 442. doi:10.3390/antiox8100442
- Hagerman, A. E. (2002).** *Tannin Chemistry: Hydrolyzable Tannin Structural Chemistry*. USA: Tannin Handbook.
- Hajlaoui, H., Arraouadi, S., Mighri, H., Chaaibia, M., Gharsallah, N., Ros, G. & Kadri, A. (2019).** Phytochemical constituents and antioxidant activity Of *Oudneya Africana* L. leaves extracts: evaluation effects on fatty acids and proteins oxidation of beef burger during refrigerated storage. *Antioxidants*, 8: (442): 1-19. doi:10.3390/antiox8100442
- Hamla, C. (2016).** Caractérisation des gènes de tolérance à la sécheresse chez le blé dur: Etude du rôle des déhydrines et des aquaporines. Thèse de doctorat en biologie végétale et écologie non publié, Université Frères Mentouri. Constantine.
- Hammami, S., Ciavatta, M. L., Ben Jannet, H., Cimino, G. & Mighri, Z. (2006).** Three phenolic and a sterol glycosides identified for the first time in *Matthiola longipetala* growing in Tunisia. *Croatica Chemica Acta*, 79(2), 215-218.

## Références bibliographiques

---

- Hammami, S., Ines, K., Nouha, N. M., Hichem, B. J., M'hamed, A. H. & Zine, M. (2009).** Chemical constituents of *Matthiola Longipetala* (Ssp. *Livida* ) (Del.) Maire (Brassicaceae) growing in Tunisia. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 11: 159-162.
- Hammoudi, R. (2009).** Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium* geyrii provenant de la région Tamanrasset. Mémoire de magister en Biochimie et analyse des Bio-produits non publié, université kasdi Merbah, Ouargla.
- Hanson, J. R. (2003).** *Natural products: The secondary metabolites*. United Kingdom: E W Abel.
- Harborne, J. B. (1980).** Plant phenolics: encyclopedia of plant physiology. *New series*, 8 : 329-402.
- Hartman, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry*, 68:2831-2846. doi:10.1016/j.phytochem.2007.09.017
- Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 67-202.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. & Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(2): 1126-1134.
- Heendeniya, S. N., Ratnasooriya, W. D. & Pathirana, R. N. (2018).** In vitro investigation of anti-inflammatory activity and evaluation of phytochemical profile of *Syzygium caryophyllatum*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1): 1759-1763.
- Hopkins, W. G. (2003).** *Physiologie Végétale* (2ème édition). De boeck Université.
- Ignat, I., Volf, I. & Popa, V. I. (2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126: 1821-1835.
- Jaenicke, R. (1967).** Intermolecular forces in the process of heat aggregation of globular proteins and the problem of correlation between aggregation and denaturation phenomena. *Journal of Polymer Science Part C*, 16: 2143-2160. doi:10.1002/polc.5070160429
- Kadry, A. K. & Van Der Maesen, L.J.G. (2002).** Seed morphology of some tribes of Brassicaceae (implications for taxonomy and species identification for the flora of Egypt). *BLUMEA*, 47(2002): 363-383. En ligne <https://www.researchgate.net/publication/40217794>
- Kadry, N. & Abdel Khalik, E. (2002).** Biosystematic studies on Brassicaceae (Cruciferae) in Egypt. Thèse obtenir le diplôme de docteur, Université de Wageningen, Hollanda.

## Références bibliographiques

---

- Kahlouche-Riachi, F. (2014).** Evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'Algerie. Thèse de doctorat Es Sciences non publié, Université Frères Mentouri, Constantine.
- Khanbabae, K. & Ree, T. V. (2001).** Tannins:Classification And Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18: 641-649.
- Khater, F. (2011).** Identification et validation fonctionnelle de nouveaux genes potentiellment impliquees dans la biosynthese des composes phenoliques. Thèse de docteur du centre international d'études supérieures en sciences agronomiques non publié, Centre International D'études Supérieures en Sciences Agronomiques - Montpellier Supagro, Montpellier.
- Khelef, Y., Chouikh, A., Rebiai, A., Neffar, S., Chefrou, A., Adjal, E.H. & Alia, F. (2019).** Biochemical, quantitative and qualitative phenolic compounds, anti-free radical's activities of *Calligonum comosum* collected from different sites in the Algerian Desert. *BIHAREAN BIOLOGIST*, 13(2): 71-76.
- Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Mémoire de magister en microbiologie appliquée non publié, Université Frères Mentouri, Constantine.
- Kibiti, C. M. & Afolayan, A. J. (2015).** Preliminary phytochemical screening and biological activities of *Bulbine abyssinica* used in the folk medicine in the eastern cape province, South Africa. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 1-12.
- Köksal, E. & Gülçin, L. (2008).** Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32: 65-78.
- Kone, K. P. F. O. (2018).** Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des metabolites secondaires de trois plantes antidiabetiques et anti-hypertensives de la pharmacopee ivoirienne. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique félix houphouët-boigny en sciences des procédés chimiques, alimentaires et environnementaux non publié, Institut National Polytechnique- Ecole Doctorale Polytechnique, Paris.
- Kozlowski, G., Felber, F. & Guadagnuolo, R. (2009).** *Ressources génétiques dans le genre Brassica L. pour la suisse - etude de cas rave sauvage Brassica rapa subsp. campestris (L.) Clapham en Suisse.* Suisse.
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Thèse pour obtenir

## Références bibliographiques

---

le grade de docteur du muséum national d'histoire naturelle non publié, Université Paris, Paris.

**Ksouri, R., Megdiche, W., Jallali, I., Debez, D., Magné, M., Hiroko, I. & Abdelly, C.H. (2012).** Medicinal halophytes: Potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4): 289-326.

**Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G. & Carde, J. P. (1994).** Biogénèse Des Monoterpènes II - La Chaîne Isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: 79-99.

**Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J. & Lee, C.Y. (2003).** Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem*, 51: 7292-7295.

**Le Floch, É., Boulos, L. & Véla, E. (2010).** *Catalogue synonymique commenté de la flore de Tunisie*. Tunis.

**Leurquin, J. (2008).** Etude des Crucifères (Brassicaceae) de la Belgique et des régions voisines. *Lotissement Coputiennne*, 10 - 6920.

**Leybros, J. & Fremeaux, P. (1990).** Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés. Vol. (2J2780) : J2780.1-J2780.22.

**Lippi, G., Luca Salvagno, G., Montagnana, M., Brocco, G. & Cesare Guidi, G. (2006).** Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 44(3): 311-316. doi:10.1515/cclm.2006.054

**Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. & Randall, R. J. (1951).** Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265-275.

**Maamri, S. (2008).** Etude de Pistacia atlantica de deux régions de sud algérien: dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister en biochimie et microbiologie appliquées non publié, Université M'hamed Bougara, Boumerdes.

**Macheix, J. J., Fleriet, A. & Christian, A. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*. Lausanne.

**Mahmoudi, S., Khali, M. & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). «*Nature & Technologie*» *Science Agronomique et Biologique*, (9): 35-40.

**Maire, R. (1977).** *flore de l'Afrique du nord* (volume I Jusqu'à XIV). Paris.

**Malecky, M. (2008).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de docteur en *Physiologie de la nutrition animale* non publié, Agro Paris Tech, Paris.

## Références bibliographiques

---

- Malesev, D. & Kuntić, V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(10): 921-939.
- Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de magister en biochimie appliquée non publié, Université Ferhat Abbas, Sétif.
- Martin, E., Yilmaz, G. & Tekin, M. (2013).** Karyology of endemic *Matthiola anchoniifolia* Hub. -Mor. (Brassicaceae) in Turkey. *International Journal of Cytology*, 66(4): 293-295. [doi.org/10.1080/00087114.2013.852343](https://doi.org/10.1080/00087114.2013.852343)
- Marzouk, M. M., Kawashty, S. A., Ibrahim, L. F., Saleh, N. A. M. & Al-Nowaihi A. S. M. (2008).** Two new kaempferol glycosides from *Matthiola longipetala* (subsp. *livida*) (Delile) Maire and carcinogenic evaluation of its extract. *Natural Product Communications*, 3(8):1325-1328.
- Matkowski, A. & Piotrowska, P. (2006).** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77(5): 346-353.
- Mauro, N. M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Thèse de docteur en chimie non publié, Université Joseph Fourier, Grenoble I.
- Mburu, C., Kareru, P. G., Kipyegon, C., Madivoli, E. S., Maina, E. G., Kairigo, P. K. & Marikah, D. M. (2016).** Phytochemical screening of *Crude Extracts* of *Bridelia micrantha*. *European Journal of Medicinal Plants*, 16(1): 1-7.
- Mebirouk, B. L., Cherif, M., Boudechiche, L. & Sammar, F. (2014).** Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie. *Revue Méd. Vét.* 165 (11-12): 344-352.
- Merghem, R. (2009).** *Eléments de biochimie végétale*(16). Ed, Bahaeddine. Algérie. Documentation. Paris: Lavoisier.
- Merouane, A., Noui, A., Medjahed, H., Nedjari Benhadj Ali, K. & Saadi, A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4): 1865-1870. [doi:10.4314/ijbcs.v8i4.45](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45)
- Middleton, E. J., Kandaswami, C. & Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, *heart disease and cancer*. *Pharmacol Rev*, 52: 673-751.

## Références bibliographiques

---

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. & Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85(2): 231-237. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007.
- Mizushima, Y. & Kobayashi, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20: 169-173.
- Mohammedi, Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie non publié, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.
- Muniz, M. N. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Thèse de docteur en discipline: chimie non publié, université Joseph Fourier- Grenoble I, France.
- Nabti, L. Z. & Belhatta, R. (2016).** In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. aerial parts. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 4(6): 58- 64.
- Nacz, M. & Shahidi, F. (2006).** Phenolic in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- Nadaf, A. H., Seder, N. J. & Rayyan, W. A. (2018).** Wound healing; antimicrobial and antioxidant activity for Jordanian *Juglans Regia* L. unripe fruits. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 5: 26-34.
- Nagavani, V. & Rao, T. (2010).** Evaluation of antioxidant potential and qualitative analysis of major polyphenols by RP-HPLC in *Nymphaea nouchali* Burm flowers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4: 98-104.
- Nair, S. (2009).** Les phénomènes de repliement et de dépliement des protéines: exemple: protéine d'ubiquitine etude de simulation et conséquences médicales. Mémoire de magister non publié, Université d'Orane Es-sénia. Orane.
- Nait Achour, K. (2012).** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi ouzou. Mémoire de magister en biologie non publié, Université de Mouloud Mameri, Tizi Ouzou.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R. & Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33: 2-16.

## Références bibliographiques

---

- Nathalie, B. & Jean-Paul, C. (2006).** *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.* INRA.
- Nazck, M. & Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolic in food. *J Chromatogram A, 1054* (1-2): 95-111.
- Newman, D. J. & Cragg, G. M. (2012).** Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod, 75*: 311-335.
- Nguemnang, D.S. F., Gonzal Tsafac, E., Mbiantcha, M., Gilbert, A., Atsamo, A. D., Yousseu Nana, W. & Adjouzem, C. F. (2019).** In Vitro anti-inflammatory and InVivo antiarthritic activities of aqueous and ethanolic extracts of *dissotis thollonii* cogn. (Melastomataceae) in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019*: 1-17. doi:org/10.1155/2019/3612481
- Nkhili, E. Z. (2009).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat en sciences des aliments non publié, Université Cadi Ayad, Marrakech.
- Owoyele, B. V., Negedu, M. N., Olaniran, S. O., Onasanwo, S. A., Oguntoye, S. O., Sanya, J. O. & Soladoye, A. O. (2010).** Analgesic and anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Zea mays Husk* in Male Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food, 13*(2): 343-347.
- Oyedapo, O. O., Makinde, A. M., Ilesanmi, G. M., Abimbola, E. O., Akinwunmi, K. F. & Akinpelu, B. A. (2015).** Biological activities (anti-inflammatory and anti-oxidant) of fractions and methanolic extract of *Philonotis Hastata* (Duby Wijk & Margadant). *Afr J Tradit Complement Altern Med, 12*(4): 50-55. doi: [10.4314/ajtcam.v12i4.8](https://doi.org/10.4314/ajtcam.v12i4.8)
- Ozanda, P. (1977).** *Flore de sahara. centre national de la recherche scientifique 15, quai anatale-france-75700 Paris.* Paris.
- Ozenda, P. (1991).** *Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique* (3ème Ed.). Paris.
- Özüdoğru, B., Akaydin, G., Erik, S., Al-Shehbaz, I. A. & Mummenhoff, K. (2015).** Phylogeny, diversification and biogeographic implications of the eastern mediterranean endemic genus *Ricotia* (Brassicaceae). *TAXO, 64*(4): 727-740.
- Padmanabhan, P. & Jangle, S. N. (2012).** Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences, 2*(1): 109-116. En ligne <http://www.cibtech.org/jms.htm>
- Pandey, K. B. & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2*(5): 270- 278.

## Références bibliographiques

---

- Peeking, A., Picand B., Hacene K., Lokiec F. & Guerin P. (1987).** Oligimères pro-cyanidoliques (endotélon) et système lymphatique.artères et veines. *Publication Médicales AGCF*, 6: 512-513.
- Popovici, C., Saykova, I. & Bartek, T. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4: 25-39.
- Portier, K., Kirschvink, N., Fellmann, N., Coudert, J. & Lekeux, P. (2007).** Paramètres influençant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval. *Méd.Vét.*, 151:101-106.
- Prabhu, I. & Krishnaswamy, J. (2012).** Combined effects of zinc and high irradiance stresses on photoinhibition of photosynthesis. *Bean Journal of Stress Physiology et Biochemistry*, 8(4): 1-14.
- Quézel ,P. & Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'algerie et des régions désertiques méridionales.Ed,Tome I: Paris.
- Rached, W. (2009).** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de magister en biologie non publié, Université d'Oran Es-Sénia, Oran.
- Rahmani, H. (2017).** Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce *Agave americana L.* dans l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat 3ème cycle en sciences de l'environnement non publié, Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes.
- Ramla, S. (2017).** Etude photochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. Thèse de doctorat en sciences du médicament et des autres produits de santé" et en "génie biologique" non publié, Université Lille, Lille.
- Raven, H., Evert, R.F. & Eichhorn, S. E. (2000).** *Biologie végétale* (6é éd). Paris.
- Rezine, F. & Fedaouche, M. S. (2017).** Coumarines à intérêt thérapeutique: Synthèse et contrôle analytique. Thèse de doctarat en pharmacie non publié, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Ribereau-Gayon, P. (1968).** *Notion générales sur les composes phénoliques.In:Les composes phenoliques des vegetaux.* Edition dunod.
- Rira, M. (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de Magister en: biochimie et microbiologie appliquées non publié, Université Frères Mentouri, Constantine.
- Ruiz-Ciau, D., Cuevas-Glory, L., Quijano, L. & Sauri-Duch, E. (2017).** Chemical composition and antioxidant DPPH activity of the floral and leaves essential oils of *Montanoa speciosa* DC. *American Journal of Plant Sciences*, 8(4): 745 -753.

## Références bibliographiques

---

- Safer, A. M. & Al-Nughamish, A. J. (1999).** Hepatotoxicity induced by the anti-oxidant food additive butylated hydroxyl toluen (BHT) in rats: An electron microscopical study. *Histology and Histopathology*, 14: 391-406.
- Sbartai, H. (2008).** Etude des effets du Cadmium sur la Tomate (*Lycopersicon esculentum* L.): Essai in vivo et in vitro. Thèse de doctorat en ecotoxicologie végétale non publié, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Selaimia, A., Azouz, M., Chouikh, A., Zga, N. & Besbes, N. (2020).** Phytochemical study, antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids and diethyl ether extracts from leaves and seeds of medicinal plant of Algeria flora: *Retama monosperma* (L.) Boiss. *PONTE International Journal of Sciences and Research*, 76(4): 42-52.
- Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R. & Roy, P. (2008).** Effects of falconoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic. *Journal of Food Chemistry*, 110(3): 697-705.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., Hall, N. & Feidman, L. (1966).** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt Biochem*, 19: 415-528.
- Sideney, B. O., Dirceu, A., Amarildo, A. T. & Alessandra, B. T. (2016).** Total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity of *Vitex Megapotamic* (Spreg.) Moldenke. *Ciencia Natura*, 38(3): 1199 -1200.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178. doi: 10.1016/s0076-6879(99)99017-1
- Situ, H. & Bobek, L. A. (2000).** In vitro assessment of antifungal therapeutic potential of salivary histatin-5, two variants of histatin-5, and salivary mucin (MUC7) domain 1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(6): 1485-1493.
- Smadi, A. (2006).** Etude de l'extrait chloroformique d'*Oudneya africana*. Mémoire de magister en chimie organique, Université El-Hadj Lakhdar, Batna.
- Stoclet, J. C., Chataigneau, T., Ndiaye, M., Min-Ho, O., El jasser, B., Marta, C., Valerie, B. & Schini, K. (2004).** Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology*, 500: 299-313.
- Tabart, J. (2011).** Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydants utilisable comme complément alimentaire et Etude de ses effets sur la vasorelaxation

## Références bibliographiques

---

dépendante de l'endothélium. Thèse de doctorat en sciences, non publié, Université de Liège, Liège.

**Tebekeme, O. & Diepreye, E. (2012).** Reduction of hydrogen peroxide-induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(6): 449-453.

**Theriault, M. (2004).** Etude Des Propriétés Antioxydantes Et Antimutagènes De Composés Phénoliques Issus De L'Erable. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M. SC.) en microbiologie appliquée, INRS-Institut Armand-Frappier non publié, Armand-Frappier, Canada.

**Tirichine, H.S. (2010).** Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix Dactylifera* L.) du Sud-Est Algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université D'Oran-Es Senia, Oran Algérie.

**Tlili, M. L. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de magister en biologie non publié, Université Kasdi Merbah, Ouargla.

**Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12): 1231-1246.

**Turcati, L. (2014).** *Les plantes en famille*. Paris.

**Usmani, S., Arshad, H. & Farooqui, A. H. A. (2013).** Determination of phytochemicals, phytochemical screening and evaluation of antioxidant potential of *Digera muricata*. *Der Pharmacia Letter*, 5(2): 3-4.

**Valnet, J. (2003).** *Aromathérapie* (1ère édition). Paris: Edition Vigot.

**Valente, M. J., Baltazar, A. F., Henriques, R., Estevinho, L. & Carvalho, M. (2011).** Biological activities of portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1): 86-92.

**Venkat, K.S., Karpagambigai, S., Jacqueline Rosy, P. & Rajeshkumar, S. (2017).** Phyto assisted synthesis of silver nanoparticles using *Solanum nigrum* and antibacterial activity against *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. *Engineering Journal, Magnolithe*, 9. doi:10.2412/mmse.86.22.967

**Verpoorte, R. & Alfermann, A. W. (2000).** *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Netherlands.

**Vuorela, S. (2005).** *Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics*. Helsinki.

## Références bibliographiques

Yeo, S. O., Guessennd, K. N., Meité, S., Ouattara, K., Bahi, G. A., N'Guessan, J. D. & Coulibaly, A. (2014). In vitro antioxidant activity of extracts of the root *Cochlospermum planchonii* Hook. f. ex. Planch (Cochlospermaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4): 164-170.

Youbai, A. (2015). Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Mémoire de magister en biologie non publié, Université Kasdi Merbah, Ouargla.

Zebidi, M., Seghiri, I., Mehellou, Z. & Derouiche, S. (2018). Evaluation of in-vitro Anti-oxidant and Anti-diabetic activities of leave aqueous extracts of *Oudneya Africana*. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(5): 48-54.

Zeghad, N., Ejaz, A., Belkhiri, A., Heyden, Y. V. & Kristiaan, D. (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria, Algeria.

Zenk, H. & Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the photochemistry of nitrogenous compounds. *Photochemistry*, 68: 2757-2772.

جيدل، ص. (2015): وتقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأوكسدة لمستخلصات نباتات *Artemisia* . *Argania spinosa* L، *campestris* L و *Pistacia lentiscus* L. أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه لم تنشر، جامعة فرحات عباس 1، سطيف.

حليس، ي.، (2005): الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. مطبعة الوليد، الوادي، الجزائر، ص: 152-153.

حمد، ش.ع. و حسام، م. ا. (2013): التشخيص النوعي والطيفي والتقدير الكمي لبعض المكونات الفعالة لنبات ودراسة فعاليتها ضد البكتيريا المرضية وإمكانية استخدامها في صناعة الصابون *Seidlitzia Rosmarinus* الشنان نوع مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة، 7(2).

شهيد، ع.ا.، جبر، م.ع.، صاحب، ح.م.، (2012) : دراسة مقارنة بين الشد الفسيولوجي ( التعمير) والشد البيئي (الملوحة المائي في عقل الماش *Vigna radiata* L. Wilczek والإجهاد). مجلة الفرات للعلوم الزراعية 4(2) ، ص: 104-117.

# **Annexes**

## Annexes

---

### Annexe1 :



Préparation des extraits bruts



Les extraits bruts

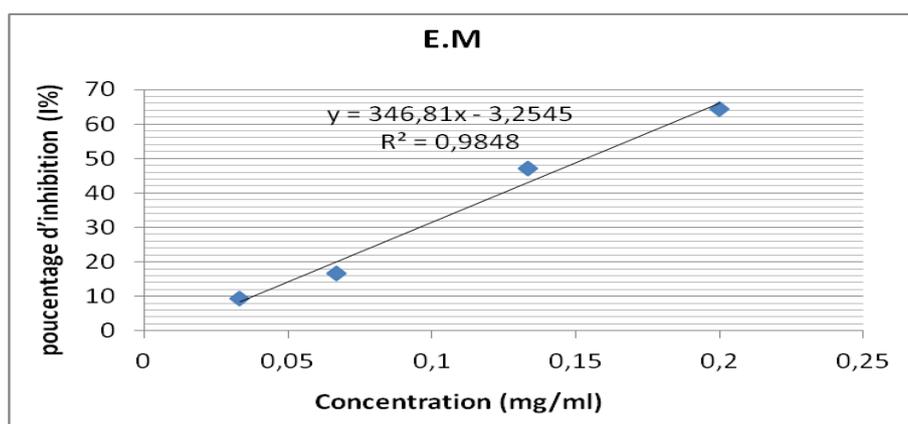


Centrifugeuse

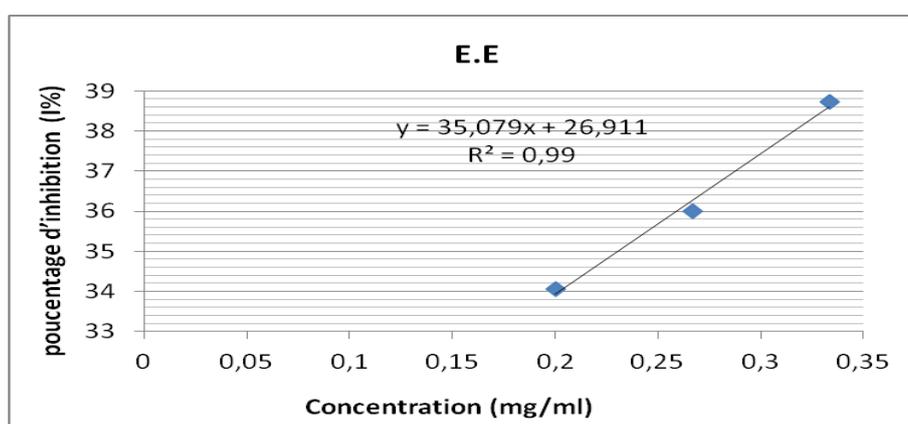


Spectrophotomètre

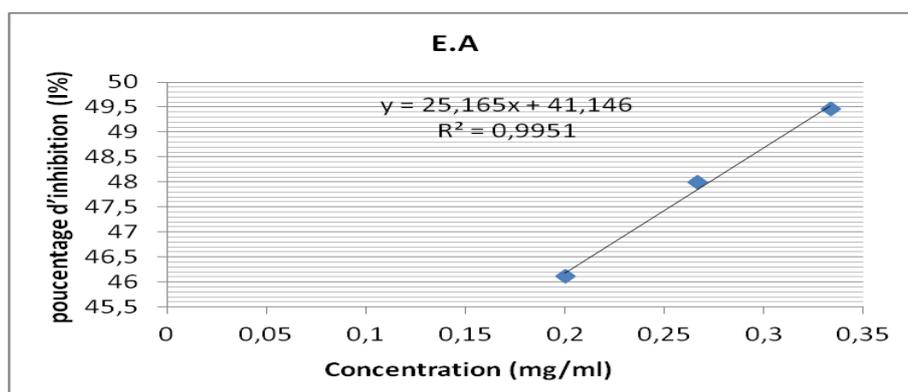
Annexe2 :



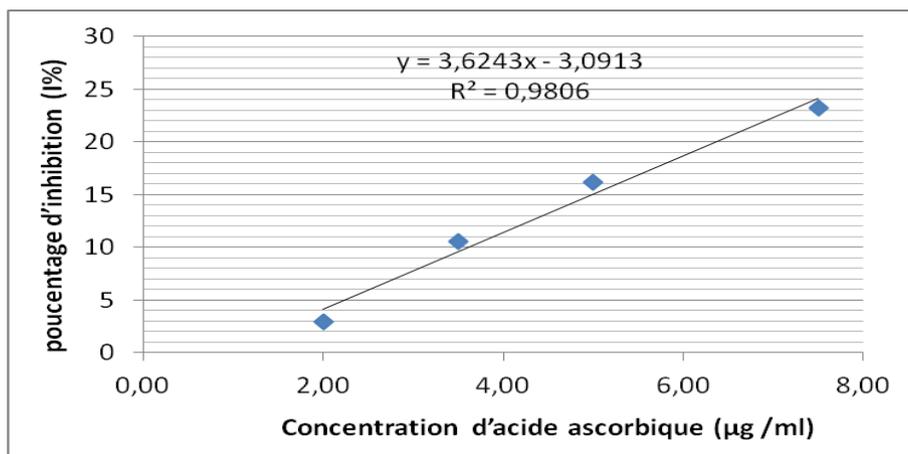
**Figure 1:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait méthanolique de *Matthiola livida* DC.



**Figure 2:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait éthanolique de *Matthiola livida* DC.



**Figure 3:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux de *Matthiola livida* DC.



**Figure 4 :** Courbe d'acide ascorbique de test DPPH