

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre:
N° de série:

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

**Dosage des polyphénols et des flavonoïdes
d'*Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea***

Par :

TEGGAR Hafsa

TEGGAR Meriem

Jury :

M^{elle}. TELLI A.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Encadreur**

M^{elle}. BENSANIA W.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Examinatrice**

Année universitaire 2013/2014

DEDICACE

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur, Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère KHADHRA. A mon père MOUSSA, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. Que dieu les gardes et les protège. A mes adorables sœurs CHAIMA, ZINEB, MERIEM et sa marie TAYEB

A mes frères YA AKOUB et ISHAK.

A mes amies tous et mes cousins pour leurs courage.

A mes oncles et tantes

Mon cher grand père maternel Ma chère ma grand-mère maternelle et grand-mère paternelle A la mémoire de mon grand père paternel et mon oncle YOUCEF Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur.

Je dédie et remerci infiniment le professeur Melle : TELLI Alia.

Mon directeur de mémoire dont la disponibilité, Enfin à tous les professeurs de la faculté, aussi tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail

A tous ceux qui me sont chères.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime

TEGGAR Hafsa



Dédicace

Je dédie ce travail à mes très chers parents, pour leur soutien et tous les efforts qu'on me a donnés le long de mes parcours, et je leur souhaite la bonne santé et longue vie.

*Je dédie spécialement ce travail à mon encadreuse
M^{lle} TELLI Alia.*

A tous les membres de ma famille.

A mon marié TAYEB.

Je dédie ce travail aussi à tous mes chers frères et sœurs.

A tous mes oncles et tantes.

A tous mes cousins et cousines.

A tous mes enseignants qui ont fait leurs possibilités pour nous donner le maximum d'information concernant notre études.

Et finalement pour la promotion 2013/2014

TEGGAR Meriem



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur maître assistante A à la Faculté des SNV d'université de Ghardaïa. Melle : TELLI Alia, nous teindre vivement à lui exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de recherche. Nous la remercies de nos avoir fait confiance et d'avoir été présent aussi souvent que possible malgré ses tâches administratives Son soutien permanent et son dynamisme nous ont permis d'avancer plus loin dans notre recherches.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier Aux responsables de laboratoire de chimie du département de Biologie et à nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles

Nous tenons à ne remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.

Résumé

Les plantes étudiées *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* ont été récoltées et conservées par séchage, les échantillons obtenues ont été analysés pour déterminer leurs rendements et leurs teneurs en PPt et Ft, l'extraction est réalisée par macération avec quatre types de solvants de polarités différentes. Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus élevé pour *Ammodaucus leucotrichus* est obtenu avec l'acétone (4.16%) alors que pour *Cotula cinerea* le rendement maximale est enregistré avec l'extrait aqueux (2.66%). La teneur en polyphénols des différents extraits est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Nous constatons que les deux espèces présentent des teneurs en PPt très proches pour chaque type d'extrait. La meilleure valeur de taux des PPt est obtenue avec les extraits aqueux pour les deux espèces qui sont de $54364.58 \pm 1398.01 \mu\text{g EAG/g}$ pour *Ammodaucus leucotrichus* et $52812.50 \pm 891.04 \mu\text{g EAG/g}$ pour *Cotula cinerea*. Nous avons aussi évalué la teneur en flavonoïdes des différents extraits par la méthode de KIM et al. (2003). Les deux espèces *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* présentent des teneurs en flavonoïdes les plus élevées pour les extraits aqueux et qui sont $921.21 \pm 73.48 \mu\text{g}$ et $854.54 \pm 20.99 \mu\text{gER/g}$ du poids sec respectivement. Il ressort de ces résultats que les teneurs en PPt et Ft sont proportionnelle à la polarité du solvant d'extraction pour les deux plantes ce qui montre que ces espèces sont riches en composés phénoliques glycosylés.

Mots clés : *Ammodaucus leucotrichus*, *Cotula cinerea*, polyphénols, flavonoïdes, extrait.

Abstract

The studied plants *Ammodaucus leucotrichus* and *Cotula cinerea* were harvested and preserved by drying, the obtained samples were analyzed to determine their yields and their PpT and Ft content, the extraction is realized by soaking with four types of solvents of different polarities. The obtained results show that the the highest yield, for *Ammodaucus leucotrichus* is obtained with the acetone (4.16%) while for *Cotula cinerea* the maximum yield is recorded with the aqueous extract (2.66%). The polyphénols content of the different extracts is determined by the folin-ciocalteau method.

We note that the two species present PpT content very close for every type of extract. The better value of rate of the PpT is obtained with the aqueous extracts for the two species that are of $54364,58 \pm 1398.01 \mu\text{g EAG/g}$ for *Ammodaucus leucotrichus* and $52812,50 \pm 891.04 \mu\text{g EAG/g}$ for *Cotula cinerea*. We also evaluated the flavonoïdes content of the different extracts by the method of KIM and Al. (2003).

The two species *Ammodaucus leucotrichus* and *Cotula cinerea* present flavonoïdes content the more students for the aqueous extracts and that are $921,21 \pm 73.48 \mu\text{g}$ and $854,54 \pm 20.99 \mu\text{g ER/g}$ of the dry weight. Respectively it appears of these results that the PpT and Ft content are proportional to the polarity of the solvent of extraction for the two plants it self that shows that these species are rich in phenolic compounds glycosylated.

Words keys: *Ammodaucus leucotrichus*, *Cotula cinerea*, polyphénols, flavonoïdes, extracts.

المخلص

النباتات المدروسة *Cotula cinerea* و *Ammodaucus leucotrichus* تم حصادها وحفظها عن طريق التجفيف ، وقد تم تحليل العينات المتحصل عليها لتحديد مردودها ومحتواها من إجمالي البوليفينولات وإجمالي الفلافونويدات ، والتي تم استخلاصها من خلال النقع بواسطة أربع محاليل مختلفة القطبية .

بينت النتائج أن أعلى مردود ل *Ammodaucus leucotrichus* تحصلنا عليه بواسطة الأسيتون (% 4.16) في حين أنه تم تسجيل أقصى قدر من المردود ل *Cotula cinerea* بواسطة المستخلص المائي (% 2.66) و قد تم تحديد البوليفينولات من مستخلصات مختلفة بطريقة Folin-Ciocalcu . من خلال النتائج، نجد أن المحتوى الإجمالي للبوليفينولات متقارب بين النباتين وبالنسبة لكل نوع من المستخلصات .

أفضل قيمة لمعدل إجمالي البوليفينولات تم الحصول عليها بالمستخلص المائي لكلا النوعين والتي كانت $54364,58 \pm 1398,01 \mu\text{g}$ ل *Ammodaucus leucotrichus* و $52812,50 \pm 891,04 \mu\text{g}$ ل *Cotula cinerea* . وأيضا قد قيمنا محتوى الفلافونويدات لمختلف المستخلصات بطريقة (KIM et al. 2003) .

حيث سجلت القيم الأكبر لمحتوى الفلافونويدات لكلا النوعين في المستخلص المائي و التي قدرت ب :

$921,21 \pm 73,48 \mu\text{g}$ و $854,54 \pm 20,99 \mu\text{g}$ ER/g

تظهر هذه النتائج أن المحتوى من إجمالي البوليفينولات و إجمالي الفلافونويدات تكون متناسبة طرديا مع قطبية محلول الاستخلاص بالنسبة لكلا النباتين هذا ما يعني أن هذين النوعين غنيين بالمركبات الفينولية الغليكوزيلاتية.

الكلمات المفتاحية : *Ammodaucus leucotrichus* ، *Cotula cinerea* ، البوليفينولات، الفلافونويدات، المستخلصات.

Liste des tableaux

N°	Titre	page
1	Structure des squelettes des polyphénols.....	6
2	Rendement d'extraction (%) de <i>Cotula cinerea</i> et d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	25
3	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> et d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	27
4	Teneur donnée en flavonoïdes des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> et d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	29

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Structure du 2-phényle chromane.....	7
2	Structure générale des flavonoïdes.....	7
3	Principales classes de flavonoïdes. Un (ou deux) exemple (s) précis à été donné dans chacun des cas.....	8
4	Structure des anthocyanosides.....	9
5	Exemples de tannins hydrolysables.....	10
6	Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).....	11
7	exemple de structure d'un tanin condensé.....	11
8	localisation de la région d'étude (Mansoura).....	17
9	rendement d'extraction (%) en fonction de type d'extrait pour <i>Cotula cinerea</i>	26
10	rendement d'extraction (%) en fonction de type d'extrait pour <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	26
11	Teneur en PPt des différents extraits de <i>Cotula cinera</i> et <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	28
12	Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Cotula cinera</i> et <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	30

Liste des photos

N°	Titre	Page
1	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> (original).....	18
2	<i>Cotula cinerea</i>	20
3	l'extraction des composés phénoliques d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> et <i>Cotula cinerea</i> par les 4 solvants (original).....	22
4	dosage des polyphénols totaux (original).....	24
5	dosage des flavonoïdes totaux (original).....	24

Liste des abréviations et symboles

mono	: une
di	: deux
polyphénols	: plusieurs fonctions phénoliques
C ₆	: Carbone numéro 6
R	: Radical
OH	: Groupe hydroxyle
H	: Hydrogène
O	: Oxygène
CO	: Oxyde de carbone
COOH	: Groupement carboxyle
Ol	: Groupement alcool
cis	: La configuration cis
trans	: La configuration trans
UV	: Ultra-violet
β	: Carbone beta
ADN	: acide désoxyribonucléique
p/v	: Poids sur le volume
R	: Rendement d'extraction en %
Pe	: Poids d'extrait en gramme
Pv	: Poids de la biomasse végétale en g
Ex AC	: Extrait d'acétone
Ex Hexane	: Extrait d'hexane
Ex Aq	: Extrait aqueux
Ex EtOH	: Extrait d'éthanol
PPt	: polyphénols
Ft	: Flavonoïdes

INTRODUCTION GÉNÉRALE

<i>Introduction générale</i>	1
------------------------------------	---

CHAPITRE I : Généralité sur les composés phénoliques

1.- Généralité sur les composés phénoliques	4
1.1.- Biosynthèse	5
1.2.- Classes des polyphénols	5
1.2.1-Flavonoïdes.....	6
1.2.2-Anthocyanosides.....	9
1.2.3-Tannins.....	9
1.2.3.1-Les tannins hydrolysables.....	9
1.2.3.2-Tannins condensés.....	11
1.2.4-Phénols simples et les acides phénoliques.....	12
1.2.4.1-Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	12
1.2.4.2-Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	12
1.2.4.3- Phénols simples.....	12
1.2.5-Coumarines.....	12
1.2.6-Quinones.....	13
1.2.7-Stilbènes.....	13
1.2.8-Lignanes.....	13
1.3-Les propriétés biologiques des polyphénols	14

CHAPITRE II : Méthodologie du travail

2.- Méthodologie du travail	17
2.1.- Description de la région d'étude (Mansoura)	17
2.2.- Description des espèces choisies dans cette étude	18

2.2.1.- <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	18
a.-Nom (s) commun (s)	18
b.-Systématique.....	18
c.-Description botanique.....	18
d.-Description écologique.....	19
e.-Les aires de répartition géographiques.....	19
f.-Utilisation d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> en phytothérapie.....	19
g.-Actions pharmacologique et toxicité.....	20
2.2.2- <i>Cotula cinerea</i>	20
a.-Nom (s) commun (s)	20
b.-Systématique.....	20
c.-Description botanique de <i>Cotula cinerea</i>	20
d.-Description écologique.....	21
e.- Aires de répartitions.....	21
f.-Utilisation de <i>Cotula cinerea</i> en phytothérapie.....	21
g.-Actions pharmacologique et toxicité.....	22
2.3.- Méthode	22
2.3.1.- Récolte et séchage.....	22
2.3.2.- Extraction.....	22
2.3.3-Détermination de rendement d'extraction.....	23
2.3.4 -Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	23
2.3.4.1-Dosage des polyphénols totaux.....	23
2.3.4.2-Dosage des flavonoïdes.....	24

CHAPITRE III : Résultats et discussions

3.-Résultats et discussions	25
3.1.- Rendement d'extraction	25

3.2.-Teneurs en polyphénols (PPt) totaux des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> et <i>Ammodaucus leucotrichu</i>.....	27
3.3.-Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> et <i>Ammodaucus leucotrichus</i>.....	29
<i>Conclusion générale</i>	
<i>Conclusion générale</i>.....	31
<i>Références bibliographiques</i>.....	32
<i>Annexes</i>.....	38

Introduction générale

Introduction générale

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit cote à cote avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie **(ISERIN, 2001)**.

Les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes **(ISERIN, 2001)**.

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes **(ISERIN, 2001)**.

Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières reviennent au premier lieu car l'efficacité des médicaments décroît vue leurs effets secondaires sur la santé publique **(ROBINSON et ZHANG, 2011)**.

Dans les pays en voie de développement, entre 70 et 95% de la population a recours aux plantes médicinales pour les soins primaires par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. Il est estimé qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes sont dérivés, directement ou indirectement, à partir de plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux connaissances traditionnelles **(ROBINSON et ZHANG, 2011)**.

De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques **(FLET, 1984)**.

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (**BERUBE-GAGNON, 2006**).

Parmi, les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 d'entre eux sont issus de produits naturels. Cela signifie que le nombre de médicaments issus de produits naturels est supérieur à celui issus de la chimie combinatoire où plus de 10 000 molécules doivent être synthétisées puis testées afin de mener au développement d'un seul médicament (**BERUBE-GAGNON, 2006**).

Par conséquent, les quelques 250 à 300 000 espèces inventoriées de plantes que l'on trouve sur terre, dont seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives, représentent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels. Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**BERUBE-GAGNON, 2006**).

Les plantes synthétisent une gamme très vaste de composés organiques qui sont traditionnellement considérés comme métabolites primaires et secondaires, bien que les limites précises entre les deux groupes peuvent, dans certains cas, être un peu ambiguës (**CROZIER *et al.*, 2006**). Les métabolites primaires sont les composés qui ont des rôles essentiels liés à la photosynthèse, la respiration et la croissance et le développement. Il s'agit notamment des phytostérols, des lipides acyles, des nucléotides, des acides aminés et les acides organiques. Les autres composés phytochimiques, dont beaucoup s'accumulent en concentrations étonnamment élevées chez certaines espèces, sont considérés comme des métabolites secondaires. Ceux-ci ont des structures diverses et nombreuses et sont repartis entre un nombre très limité d'espèces dans le règne végétal. Le nombre de structures décrites dépasse 100 000 et le nombre réel dans la nature est certainement beaucoup plus élevé parce que jusqu'à présent, seulement 20-30% des plantes ont été étudiées en phytochimie (**WINK, 2010**).

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Les polyphénols (principalement, flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante (**NKHILI, 2009**).

Plusieurs plantes médicinales sahariennes s'adaptent aux sécheresses du climat tempérés, l'aridité du milieu et la température élevées qui induits à l'adaptation de ces plantes par différentes régulations physiologiques et morphologiques. Ces plantes sont très connues et utilisées par les nomades pour se soigner et pour nourrir leurs troupeaux (**UNISCO, 1963**). Parmi ces plantes il y a des espèces qui sont endémiques, certaines entre eux sont en danger. Il est à noter qu'il y a beaucoup des études effectuées sur les espèces ayant une répartition géographique importante, alors que les espèces endémiques de Sahara Algérien et surtout le Sahara septentrional sont peu ou pas étudiées.

Dans ce contexte, nous avons effectué ce travail afin de déterminer la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de deux espèces endémiques de Sahara septentrional qui sont *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea*.

CHAPITRE I

Généralité sur les composés phénoliques

1.- Généralité sur les composés phénoliques

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols, ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Pour éviter tout équivoque il est donc préféré d'utiliser la désignation générale « *composés phénoliques* » qui concerne à la fois les mono-, di- et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux, plusieurs fonctions phénoliques (MACHEIX *et al.*, 2005).

Les polyphénols (8 000 composés connus) représentent un groupe de métabolites –secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal (COLLIN et CROUZET, 2011).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, mythélique, ester, sucre...) (MACHEIX *et al.*, 2005).

Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent dans différentes familles : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tanins, quinones, acides-phenols, xanthines... Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (MACHEIX *et al.*, 2005).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (MACHEIX *et al.*, 2005).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelquefois atteindre des valeurs élevées (MACHEIX *et al.*, 2005).

Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou

engagés dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre...). Un critère supplémentaire, biosynthétique, permet de mieux cerner les limites de ce groupe : un composé phénolique est un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un polyacétate. Cette définition est parfois élargie puisque les capsaïcinoïdes sont considérés par certains auteurs comme des polyphénols alors qu'au sens strict, ce ne sont que des dérivés de polyphénols. A l'heure actuelle, plus de 8 000 composés naturels satisfaisant fluides et des teintures pharmaceutiques. Il peut être également soumis à des échanges liquides –liquides ou solide-liquide pour aboutir à un produit pur ou à un ensemble des composés de même famille chimique (**VERCAUTEREN *et al.* 1998**).

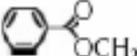
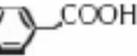
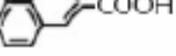
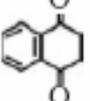
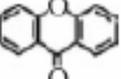
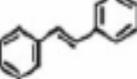
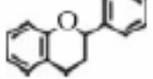
1.1.- Biosynthèse

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues. Les acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont eux-mêmes formés à partir de sucres simples issus eu métabolismes primaires. Par la voie bien connue de l'acide shikimique. Bien que la formation de composés particuliers (alcaloïdes phénoliques, certaines coumarines complexes...) puisse passer par des voies différentes, la désamination de la phénylalanine est une première étape primordiale de la biosynthèse de l'immense majorité des composés phénoliques naturels. Elle conduit à la formation de l'acide cinnamique, molécule non encore phénolique mais qui est directement à l'origine de la séquence biosynthétique généralement dénommée *voie des phénylpropanoïdes*, qui permet la formation des acides hydroxycinnamiques : acides *p*-coumarique (et ses isomères *o*- et *m*-coumariques), caféique, férulique et sinapique. L'acide 5-hydroxyférulique est un intermédiaire fugace qui ne s'accumule pas chez les végétaux (**MACHEIX *et al.*, 2005**).

1.2.- Classes des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Tableau 1**) qui se différencient d'abord par complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de se squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques...) (**MACHEIX *et al.*, 2005**).

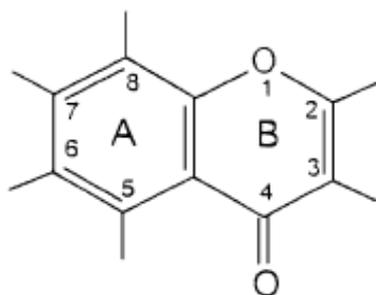
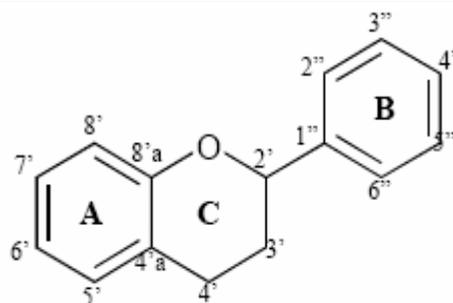
Tableau 1: Structure des squelettes des polyphénols (CROZIER *et al.*, 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Napthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

1.2.1.-Flavonoïdes

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes. Ils sont présents dans la plupart des légumes, des fruits, des baies et des boissons tels que le thé, le vin et le jus de fruits (CAMILLERI et SNOUSSI, 2012). Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), correspondant à la structure du diphenylpropane (SANTOS-BUELGA et SCALBERT, 2000). Il existe plus de 4000 sortes de flavonoïdes décrits à ce jour et ce nombre va croissant (DESCHEEMAEKER et PROVOOST, 1999).

La structure d'un flavonoïde s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-diphénylpropane C₆-C₃-C₆, décrit par une nomenclature spécifique. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B, le chaînon propyle C₃ peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C (ISOREZ, 2007) (Figure 1 et 2).

**Figure 1:** Structure du 2-phényle chromane**Figure 2:** Structure générale des flavonoïdes

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auronnes (**HAVSTEEN, 2002; EDENHARDER et GRÜNHAGE, 2003**) (**Figure 3**).

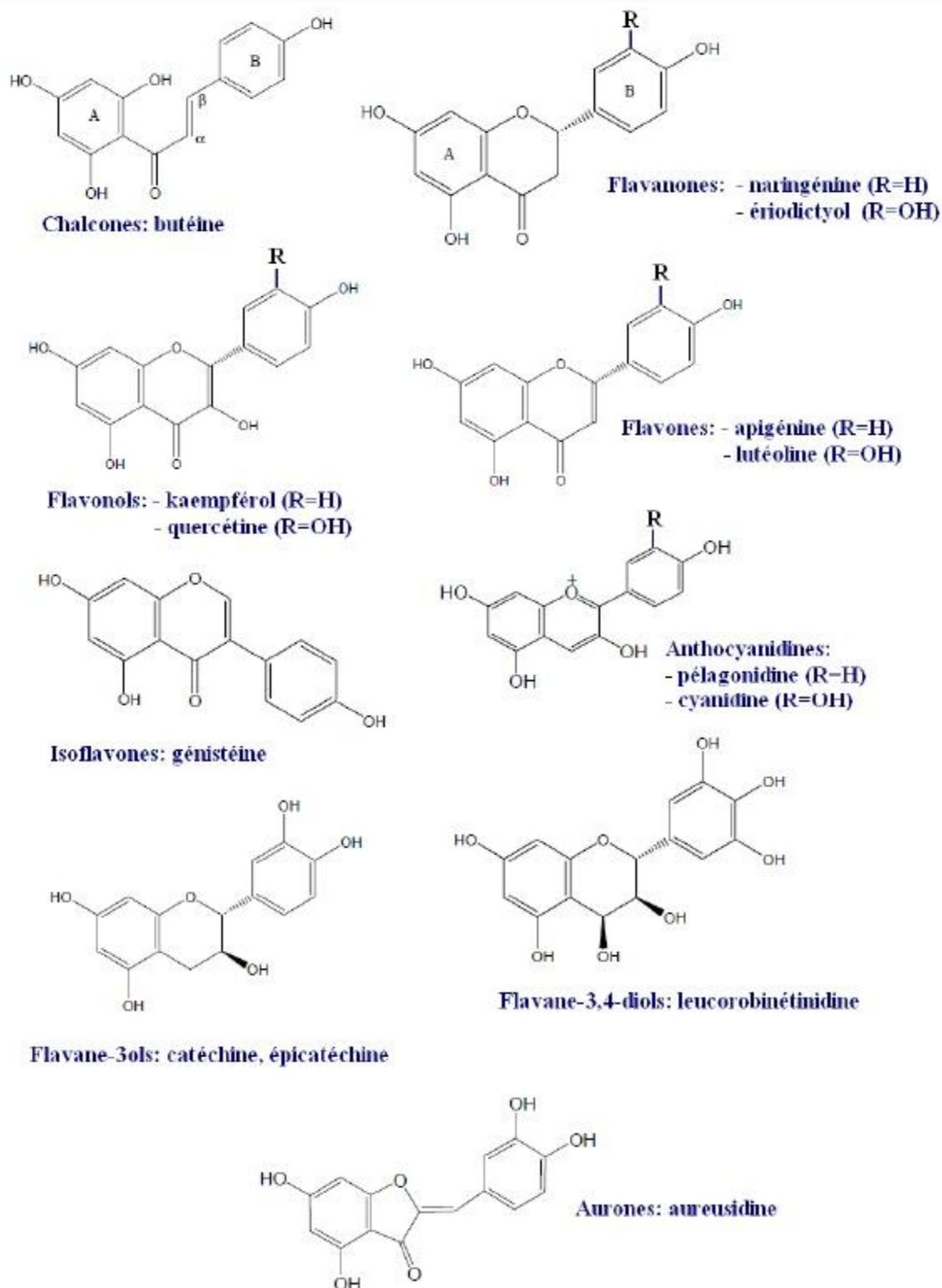


Figure 3: Principales classes de flavonoïdes. Un (ou deux) exemple (s) précis à été donné dans chacun des cas (MIGHCHEIX *et al.*, 2005).

1.2.2-Anthocyanosides

Les anthocyanosides sont des pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits. Ces pigments existent sous la forme d'hétérosides (les anthocyanosides [ou anthocyanins en anglais]) et leurs génines (les anthocyanidols [ou anthocyanidines en anglais]) sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylum, ce qui souligne l'appartenance de ces molécules au vaste groupe des flavonoïdes au sens large (**BRUNETON, 2009**) (**Figure 4**).

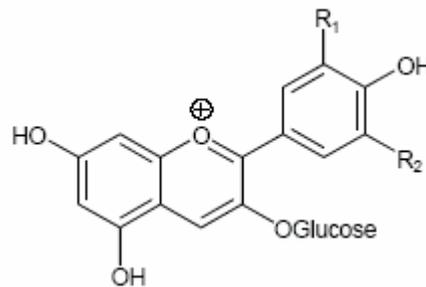


Figure 4: Structure des anthocyanosides

1.2.3-Tannins

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible, le cuir (**BRUNETON, 1999**). Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. Ces substances ont la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Ils sont très répandus dans le règne végétal et ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. (**ROUX et CATIER, 2007**).

On distingue :

1.2.3.1-Les tannins hydrolysables ou tanins « galliques »: ce sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyphénol (**ROUX et CATIER, 2007**) (**Figure 5**).

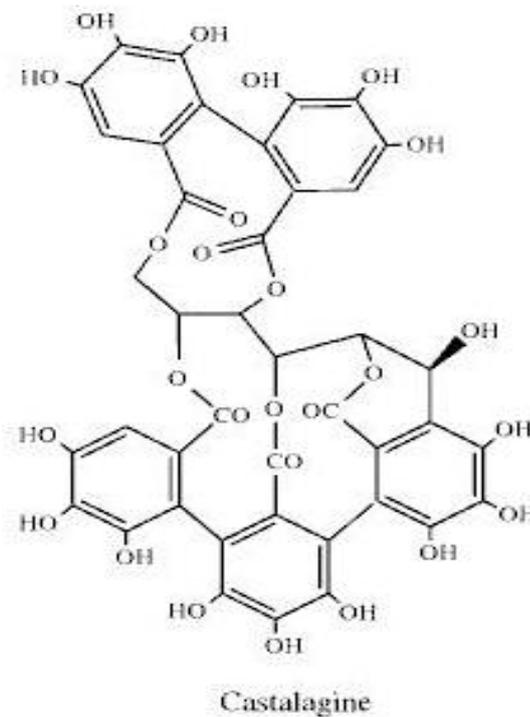
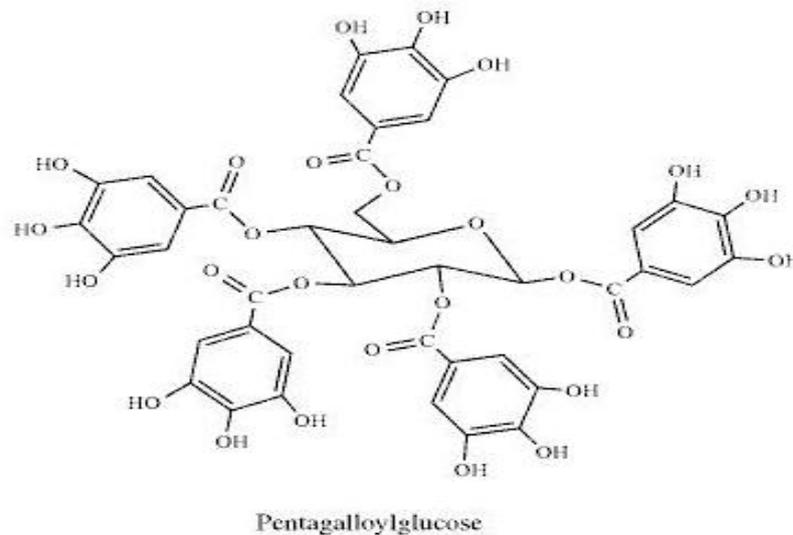


Figure 5: Exemples de tannins hydrolysables.

Une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme le tannin de chine, quelques fois appelé « acide tannique »); soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagiques (cas des tannins ellagiques ou ellagitannins comme ceux du châtaignier). Une forme simple de tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive, qui est à l'origine de la plupart des formes complexes (MACHEIX *et al.*, 2005) (Figure 6).

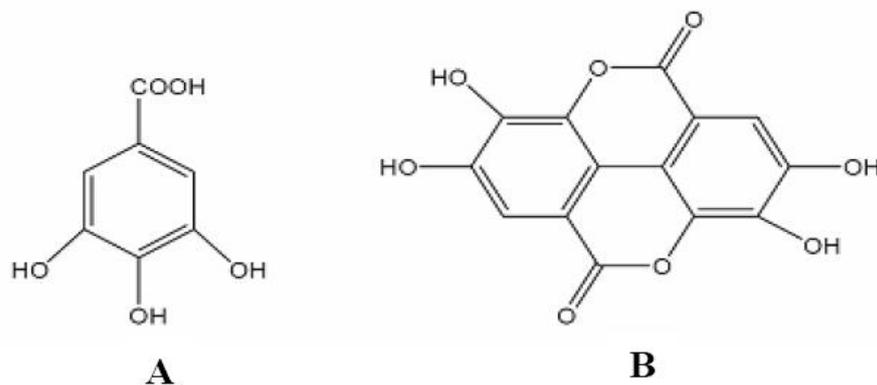
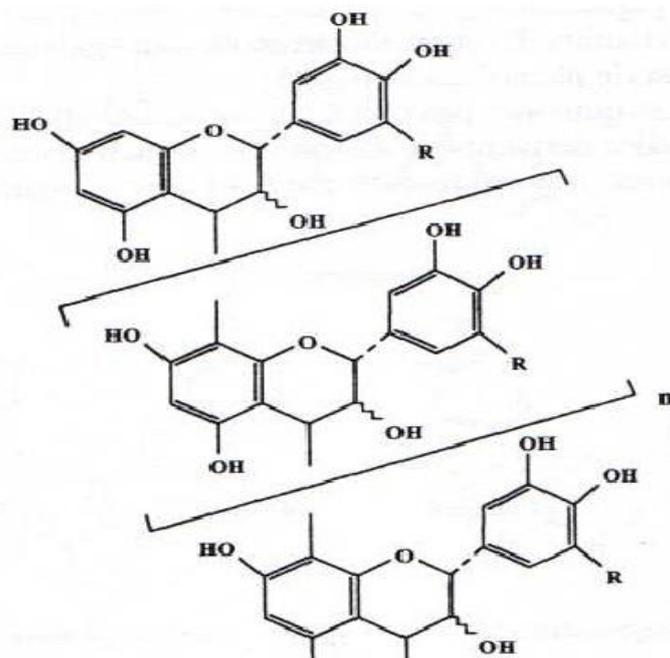


Figure 6: Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)

1.2.3.2-Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols sont souvent appelés proantocyanidines parce qu'ils produisent des anthocyanidines rouges lorsqu'on les chauffe dans l'acide. Les proantocyanidines sont des phénylpropanoïdes et se classent en fonction de leur type de monomère – flavane 3-ol ou flavane 3,4-diol- en catéchines et en leucanthocyanidine (CIPEA, 1989) (Figure 7), liée entre elles par des liaisons carbone-carbone. (BRUNETON, 2009).



R=H : unité procyanidine, dérivée de la catéchine

R=OH : unité prodelphinidine, dérivée de la gallocatéchine

Figure 7: exemple de structure d'un tannin condensé (MACHEIX *et al.*, 2005)

1.2.4-Phénols simples et les acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La partie courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (BRUNETON, 2009).

1.2.4.1-Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

Les acides-phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (acide benzoïque, *p*-hydroxybenzoïques, salicylique, vanillique, syringique, vératricque, gallique, protocatéchique). L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables. On connaît également les aldéhydes correspondant à ces acides : vanilline (le plus répandu), anisaldéhyde (dans certaines huiles essentielles), salicyladéhyde (BRUNETON, 2009).

1.2.4.2-Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C₆-C₃ (acides 4-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (ex : acide 2-coumarique) sont peu fréquents. Rarement libres, où alors ce sont des artefacts d'extraction, ils sont souvent estérifiés (BRUNETON, 2009).

1.2.4.3-Les phénols simples : les phénols simples (catéchol, guaiacol, phloroglucinol) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae) (BRUNETON, 2009).

1.2.5-Coumarines

Présent dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C₆-C₃), dérivent des acides ortho-hydrocinnamique. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexique (COLLIN et CROUZET, 2011).

Toutes les coumarines sont substituées en C-7 par hydroxyle. Les hydroxyles de ces coumarines simples peuvent être méthylés ou, cela n'est pas rare, l'un des deux peut être engagé dans une liaison hétérosidique (BRUNETON, 2009).

1.2.6-Quinones

Au point de vue chimique, les quinones sont des cétones cycliques (**ROGER DAJOZ, 2010**). Ils sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques et qui sont caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2- dicétocyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones). Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphthalène (naphtoquinones), anthracène (natharaquinones), 1,2-benzanthracène (anthracyclinones), naphthodianthrène naphthodianthrones), pérylène, phénantrène. Plus de 1200 quinones étaient décrites à la fin des années 1990, principalement dans la règne végétal, elles ne sont pas exceptionnelles dans le règne animal (**BRUNETON, 2009**).

1.2.7-Stilbènes

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes sont présents naturellement dans le règne végétal (**COLLIN et CROUZET, 2011**). Les stilbènes peuvent être libre ou hétérosidiques, parfois polymériques. Ils sont présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs (**BRUNETON, 2009**). La structure chimique de base des stilbènes est composée de deux formes isomères des stilbènes (cis et trans) qui ont des propriétés chimiques et biologiques différentes. Des inter-conversions trans/cis sont observées en présence de chaleur ou de rayonnements UV (**COLLIN et CROUZET, 2011**).

1.2.8-Lignanes

Dans l'état actuel des connaissances, il est possible de distinguer quatre groupes de composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques : les lignanes, néolignanes « oligomères » et norlignanes. De plus, il est d'usage courant de rattacher à cet ensemble les lignoides ou *lignanes hybrides* (**BRUNETON, 2009**). .

Le terme de lignane désigne habituellement des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8'). On dit aussi que ce sont des dimères d'alcools ou d'acides cinnamiques (**BRUNETON, 2009**).

1.3-Les propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (MIDDLETON *et al.*, 2000; KSOURI *et al.*, 2007). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (NIJVELDT *et al.*, 2001).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (LEONG et SHUI, 2002). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (HENNEBELLE *et al.*, 2004).

Flavonoïdes

Ce sont des molécules douées de plusieurs propriétés biologiques : propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antibactériennes, anti-carcinogènes, antioxydante et Inhibitrices d'enzymes (MILAINÉ H., 2004). Ainsi, elles sont impliquées dans d'importantes fonctions cellulaires, en affectant l'activité de nombreux systèmes enzymatiques *in vitro* mais également *in vivo*. Certaines possèdent des propriétés lytiques, protectrices de l'ADN (GIROTTI - CHANU, 2006).

Les anthocyanes

Elles pigmentent les fleurs « bleues » (bleue, violette, mauve, fruits rouges). Elles ont une action anti-inflammatoire et selon les familles de plantes, elles possèdent des propriétés

antidiarrhéique, anti-bacillaire, anti-diabétique, cholagogue, spasmolytique, tonique dusang, dépurative, astringente. Cependant, à forte dose, les anthocyanes peuvent être toxiques (**VERBOIS S., 2002**). De plus, elles ont des fonctions biologiques multiples (protections contre les rayons ultra-violets et les pathogènes, signalisation pendant la nodulation, transport des auxines, ect...). (**FRANK et al., 2009**).

Tannins

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (enzymes digestives et autres protéines fongiques ou virales). Il en est de même des problèmes qu'ils peuvent poser dans l'industrie agroalimentaire (trouble dans les bières) ou en agriculture (formation des acides humiques, valeurs nutritive des fourrages) (**BRUNETON, 2009**).

Les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques: blocage de la 5-lipoxygénase (géraniine, corilagine); inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, de l'activation de cariogénèse ; inhibition des topoisomérases par la sanguinine H-6 ou l'acide chébulagique ; inhibition de la protéine-kinase C par les tanins ellagiques et les tanins complexes, etc.

Propriétés anti-oxydantes: Grâce à leurs fonctions phénoliques, qui ont un fort caractère nucléophile, les tannins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres et de nombreux tanins présentent ainsi des propriétés anti-oxydantes (**BRUNETON, 1999; FEUCHT et TREUTTER, 1999; HASSIG et al, 1999; LIM et al, 2007**). Les radicaux libres, tels les ions ferreux ou cupriques sous forme libre, sont des espèces chimiques instables et très réactives, ils perturbent le processus de réplication de l'ADN, induisant des mutations cancérogènes. Ainsi, les activités antimutagènes et anticancéreux attribuées à certains tannins ont été associées à leurs propriétés anti-oxydantes (**CHUNG et al, 1998 ; JUNG et ELLIS, 2001 ; RICHELLE et al, 2001**).

Coumarines

Elles sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (**HENNEBELLE et al, 2004**). Elles ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Elles préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (**ANDERSON et al, 1996**).

Quinones

Les propriétés fondamentales des quinones sont leurs faciles interconversions en hydroquinines (ce sont des agents d'oxydation doux) et leur tendance à l'addition de nucléophiles. Beaucoup de naphthoquinones sont antibactériennes et fongicides ; des actions antiprotozoaires et antivirales ont été décrites et plusieurs molécules du groupes ont une toxicité non négligeable (**BRUNETON, 2009**).

CHAPITRE II

Méthodologie du travail

2.2.- Description des espèces choisies dans cette étude

2.2.1.- *Ammodaucus leucotrichus*

a.-Nom (s) commun (s)

Arabe (Algérie) : madrîga, ûmm- madrîga, kemmûn es-sôfi, kemmûn al- kûdya.

Arabe (Maroc, Tunisie) : kemmûn es-sôfi, kemmûn lemsewef, kemmûn bû- sûfa, kemmûn al-kûdya.

Targui : akâman

.Français : cumin velu, cumin du Sahara (www.toildepices.com).



Photo 1: *Ammodaucus leucotrichus* (original).

b.-Systématique

Règne	: Plantae
Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Eudicots
Sous classe	: Asterids
Ordre	: Apiales
Famille	: Apiaceae
Genre	: <i>Ammodaucus</i>
Espèce	: <i>Ammodaucus leucotrichus</i> Cross. & Dur. (QUEZEL et SANTA, 1963).

c.-Description botanique

C'est une petite plante annuelle à tige rameuse et glabre. Elle porte des feuilles pennatiséquées. Les fleurs blanches sont disposées sous forme d'une ombelle composée qui se transforme en un fruit ovale aplati recouvert de longs poils crépus, jaune-roux à la base puis blancs. Fruits (méricarpes) très odorant oblong possède un arôme semblable à celui du cumin classique. Les côtes latérales sont

légèrement ailées, les bandelettes sont grossières. Ils sont surtout densément couverts de longs poils soyeux (www.toildepices.com).

d.-Description écologique

C'est une plante annuelle qui grandit dans wadis, sur les sols sableux -graviers dans les conditions arides ou la hauteur des précipitations annuelle ne dépasse pas 100 mm. (IUCN, 2005).

e.- Aires de répartition géographiques

Local : Commun dans le Sahara algérien.

Régional : L'Afrique du nord.

Global : Ordinairement distribué à travers le Sahara, où il est considéré endémique. Sa présence est aussi mentionnée pour les Canaries. (IUCN, 2005).

f.-Utilisation d'*Ammodaucus leucotrichus* en phytothérapie

Les grains sont utilisées pour traiter des maladies liées à l'appareil digestif et de faciliter l'estomac et le foie douleur. Les feuilles sont également utilisées pour les maladies de poitrine. Dans le Tassili, en particulier la région de Djanet, elle est principalement utilisée sous forme de poudre ou d'une perfusion pour le traitement des symptômes mentionnés ci-dessus (IUCN, 2005).

Elle est également utilisée dans la zone pour récupérer l'appétit ou éviter l'indigestion, par écraser les graines et les mélanger avec du lait ou mil (IUCN, 2005).

Les feuilles sont utilisées pour aromatiser le thé. En poudre, elle est une épice très appréciée de la nourriture dans le Djanet zone (IUCN, 2005).

Au Maroc, les fruits sont utilisés sous forme de poudre ou dans une décoction pour traiter les douleurs gastro-intestinales, gastralgies et l'indigestion. Elle est également fréquemment utilisée, en perfusion, pour diverses maladies infantiles de l'appareil digestif: dysenterie, des nausées, régurgitation, des vomissements. Elle a également des propriétés toniques pour les bébés et est prise sous forme de perfusion ou dans le bain (IUCN, 2005).

g.-Actions pharmacologique et toxicité

L'activité antibiotique du cumin velu a été testée sur des germes pathogènes gastro-intestinaux à vérifier l'utilisation traditionnelle. Ces résultats n'étaient pas bien suffisant pour justifier sa renommée. Il est probable que l'activité de l'usine est antispasmodique, comme le commun cumin et autres fruits des Apiaceae (IUCN, 2005).

2.2.2-Cotula cinerea

a.-Nom (s) commun (s)

Arabe : gartoufa, robita, chiriya

Targui : takkél

English : Saharan camomile

French: camomille de Sahara (IUCN, 2005).



Photo 2: *Cotula cinerea* (www.treknature.com).

b.-Systématique

Règne	: Plantae
Embranchement	: Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	: Angiospermes
Classe	: Eudicots
Sous classe	: Astéridées
Ordre	: Astérales
Famille	: Astéracées ou Composées
Genre Espèce	: <i>Cotula cinerea</i> Del.
Noms vernaculaires	: Chiria ou Robita (QUEZEL et SANTA 1963).

c.-Description botanique de *Cotula cinerea*

C'est une petite plante annuelle d'aspect laineux de 5 à 15 cm entièrement tomenteuse. Les tiges sont dressés ou diffuses. Les feuilles et les tiges vert-blanchâtre sont recouvertes de petits poils denses qui forment comme un manteau de velours. Les feuilles petites, entières épaisses et

veloutées sont découpées en trois à sept dents ou « doigts » qui se présentent comme une main légèrement refermée. Les fleurs sont de petits demi pompons jaune d'or au bout d'une courte tige. C'est une espèce Saharo-arabique commune dans tout le Sahara et les lieux sablonneux désertiques (QUEZEL et SANTA 1963).

d.-Description écologique

Une petite plante annuelle qui se développe dans des conditions désertiques avec une moyenne de 100 mm précipitations par an et favorise les sols silico-argileux. L'usine se trouve généralement sur les lits des oueds non salins, sur des sols graveleux-sableux. (IUCN, 2005).

e.-Les aires de répartitions

Local : très commun dans le Sahara algérien.

Régional : Afrique du Nord.

Mondial : Il est commun dans tout le Sahara, y compris la région de la mer Rouge et le Sinaï. (IUCN, 2005).

f.-Utilisation de *Cotula cinerea* en phytothérapie

Elle est utilisée pour les conditions broncho-pulmonaires, la toux, des problèmes digestifs (y compris les nausées, vomissements et douleurs à l'estomac), l'insolation et les rhumatismes. Elle est appliquée comme un cataplasme sur le front pour ses propriétés fébrifuges. Dans le Sahara, elle est très appréciée dans le thé vert, et est également mélangée avec de la nourriture pour améliorer la saveur. Dans la région de Dra Maroc, elle est utilisée en tant que fébrifuge, soit ivre en décoction ou en cataplasme sur le front et les tempes. (IUCN, 2005).

Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle marocaine pour ses propriétés biologiques comme les activités anti-inflammatoire, analgésique, antiseptique, antibactérienne, antipyrétique et contre les larves (MARKOUK *et al.*, 1999 ; MARKOUK *et al.*, 2000 ; LARHSINI *et al.*, 2002).

g.-Actions pharmacologique et de toxicité

Cette plante a une activité antibactérienne. Les études effectuées sur cette espèce prouvent qu'elle n'a pas de toxicité (IUCN, 2005).

2.3.- Méthode

2.3.1.- Récolte et séchage

Après leurs prélèvements, les échantillons (*Ammodaucus leucotrichs* et *Cotula cinerea*) sont séchés à l'aire libre. Ils ont broyés à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre.

2.3.2.- Extraction

L'extraction des polyphénols est effectuée par macération pour les deux plantes étudiées : *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* dans quatre solvants qui sont: l'eau, l'éthanol, l'acétone et l'hexane à la température ambiante avec un rapport poudre/solvant de 1/20: p/v pendant 3 heures. Puis le mélange est filtré, l'extrait brut obtenu est conservé dans des contenants en verre sombre (des flacons) à 4°C (Photo 3).

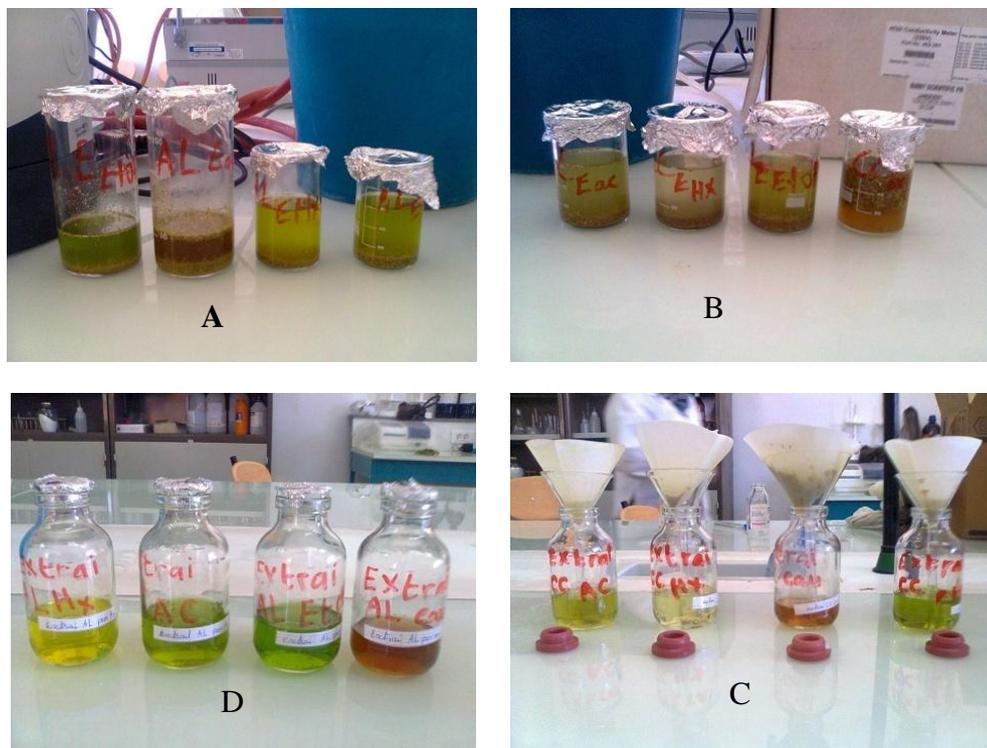


Photo 3: l'extraction des composés phénoliques d'*Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* par les 4 solvants (original).

2.3.3-Détermination de rendement d'extraction

Le rendement en composés phénoliques est le rapport entre de poids d'extrait et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculer par la formule suivante :

$$R = (Pe/Pv) \times 100$$

R : Rendement d'extraction en %.

Pe : Poids d'extrait en gramme.

Pv : Poids de la biomasse végétale en g.

2.3.4 -Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

2.3.4.1-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (SINGLETON et ROSSI, 1965 cité par BIOZOT et CHARPENTIER, 2006) (Photo 4). L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de folin-ciocalteu. Ce dernier, de couleur jaune, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène, la coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques et possède une absorption maximale aux environs de 750 nm (WATERHOUSE, 2001).

Dans notre travail la mesure de l'absorbance est effectuée à 765 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315 Spectrophotometer). Une courbe étalon est effectuée en prenant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 3g de poids sec du matériel végétal (BIGLARI et al., 2008 cité in TELLI, 2009) .



Photo 4: dosage des polyphénols totaux (original).

2.3.4.2-Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont déterminés selon le test colorimétrique de (KIM *et al.*, (2003) cité in TELLI, (2009)). L'absorbance de développement de la couleur rose est déterminée à 510 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315 Spectrophotometer). La préparation de la courbe d'étalonnage est faite avec la rutine et les résultats sont exprimés en mg équivalent en rutine par 3g du poids du sec d'échantillon (BIGLARI *et al.*, 2008 cité in TELLI, 2009) (Photo 5).



Photo 5: dosage des flavonoïdes totaux (original).

CHAPITRE III

Résultats et discussions

3.-Résultats et discussion

3.1.- Rendement d'extraction

La détermination de rendement d'extraction est effectuée pour faciliter le calcul de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits des deux espèces étudiés *Cotula cinerea* et d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Tableau 2: Rendement (%) d'extraction des différents extraits de *Cotula cinerea* et d'*Ammodaucus leucotrichus* en fonction du type d'extrait.

Type d'extrait	Rendement d'extraction (%) de <i>Cotula cinerea</i>	Rendement d'extraction (%) d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>
Extrait acétone (Ex AC)	2,16	4,16
Extrait hexane (Ex Hexane)	2,16	1,83
Extrait aqueux (Ex Aq)	2,66	2,33
Extrait éthanol (Ex EtOH)	1,33	1,66

Nous remarquons que le rendement d'extraction varie d'un extrait à l'autre et d'une espèce à l'autre (**Tableau 2**).

Pour l'espèce *Cotula cinerea* :

Les résultats des rendements obtenus par macération par différents solvants de *Cotula cinerea* donnés par la figure 9 montrent que l'eau est le meilleur solvant d'extraction (2,66%) suivi par l'acétone et l'hexane soit 2,16% pour les deux. L'éthanol a été enregistré le rendement le plus faible qui est 1,33%.

Pour l'espèce *Ammodaucus leucotrichus* :

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction (*Ammodaucus leucotrichus*) de la figure 10 que l'acétone donne le meilleur rendement d'extraction soit de 4,16%, alors que l'éthanol donne le faible rendement (1,66%).

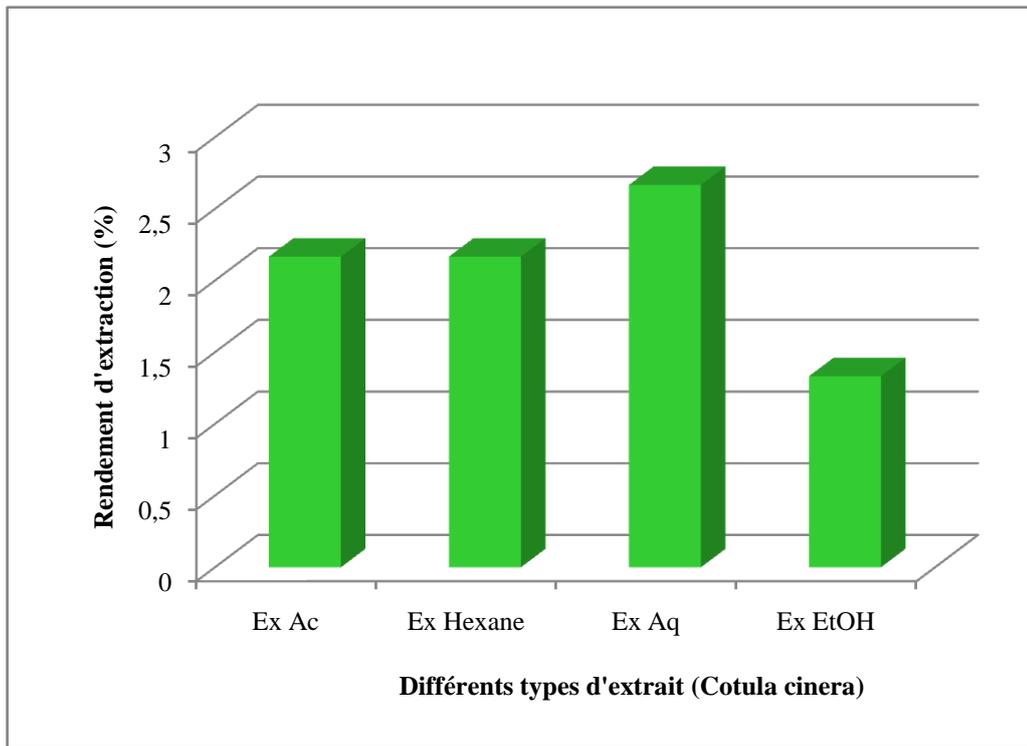


Figure 9: Rendement d'extraction (%) en fonction de type d'extrait pour *cotula cinerea*.

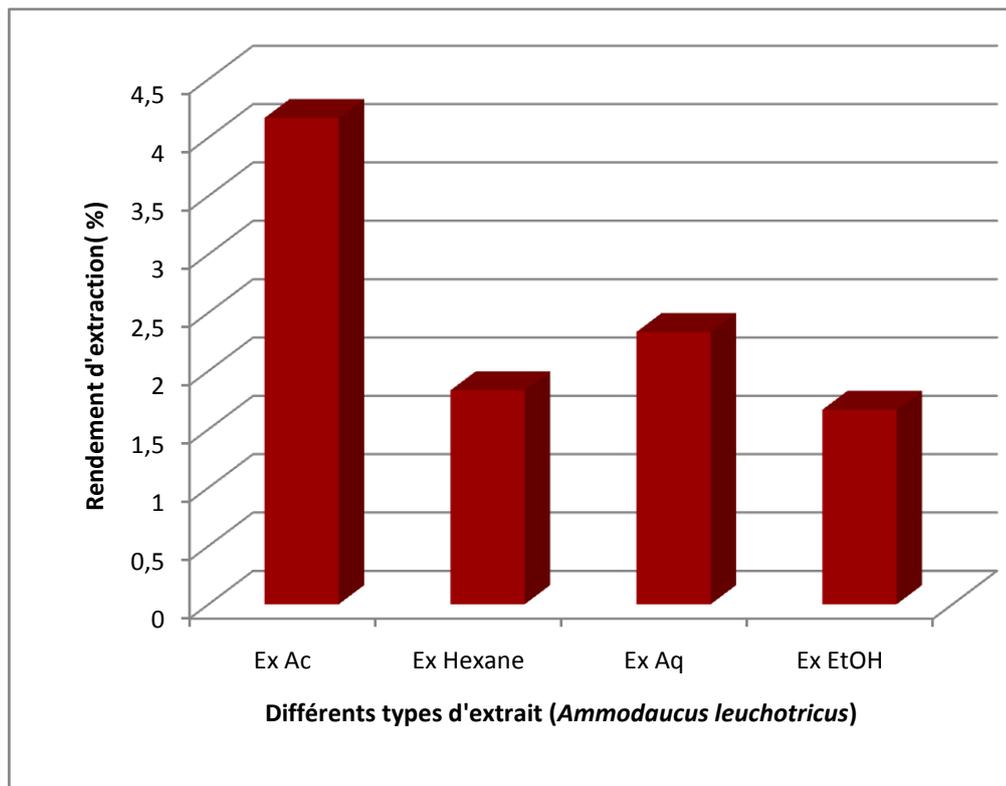


Figure 10: Rendement d'extraction (%) en fonction de type d'extrait pour *Ammodaucus leucotrichus*.

3.2 Teneurs en polyphénols totaux (PPt) des différents extraits de *Cotula cinerea* et *Ammodaucus leucotrichus*

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits sont présentées dans le tableau 3 et les figures 11 et 12.

Tableau 3: Teneur en polyphénols totaux des différents extraits des deux espèces étudiées.

Type d'extrait	<i>Cotula cinerea</i>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>
Extrait aqueux (Ex Aq)	52812,50 ±891,04	54364,58 ±1398,01
Extrait éthanol (Ex EtOH)	5666,67 ±143,93	6064,58 ±182,15
Extrait acétone (Ex AC)	113,96 ±6,29	134,58 ±10,87
Extrait hexane (Ex Hexane)	39,58 ±5,46	82,71 ±3,82

Les résultats obtenues ont montré que les teneurs en polyphénols totaux varient en fonction du solvant utilisé et la (**Figure 11**) présente la teneur en PPt selon les solvants utilisé (aqueuse, éthanol, acétone, hexane) pour les deux espèces à étudiée *Cotula cinerea* et *Ammodaucus leucotrichus*.

Concernant la teneur en PPt pour l'espèce *Cotula cinerea* :

La teneur la plus élevée en PPt est enregistrée pour l'extrait aqueux qui est de 52812,50 ± 891,04 µg en équivalent d'acide gallique/g de poids sec de matériel végétal, suivi par l'extrait éthanolique qui présente un taux faible (5666,67±143,93 µg) en comparaison avec l'extrait aqueux. Les extraits d'acétone et de l'hexane présentent des teneurs en PPt très faibles et sont successivement de 85,54±9,62 µg et 23,56±1,21µg (**Tableau 3**).

Concernant la teneur en PPt d'*Ammodaucus leucotrichus* les résultats sont comme suivant :

La teneur la plus élevée en PPt est enregistrée pour l'extrait aqueux qui est de 54364,58± 1398,01 µg en équivalent de l'acide gallique /g de poids sec de matériel végétal, suivie par l'extrait éthanolique qui présente une valeur intermédiaire de 6064,58± 182,15 µg, les extraits d'acétone et de l'hexane présentent des teneurs en PPt très faible et sont successivement de 134,58 ±10,87 µg et 82,71 ±3,82 µg (**Tableau 3**).

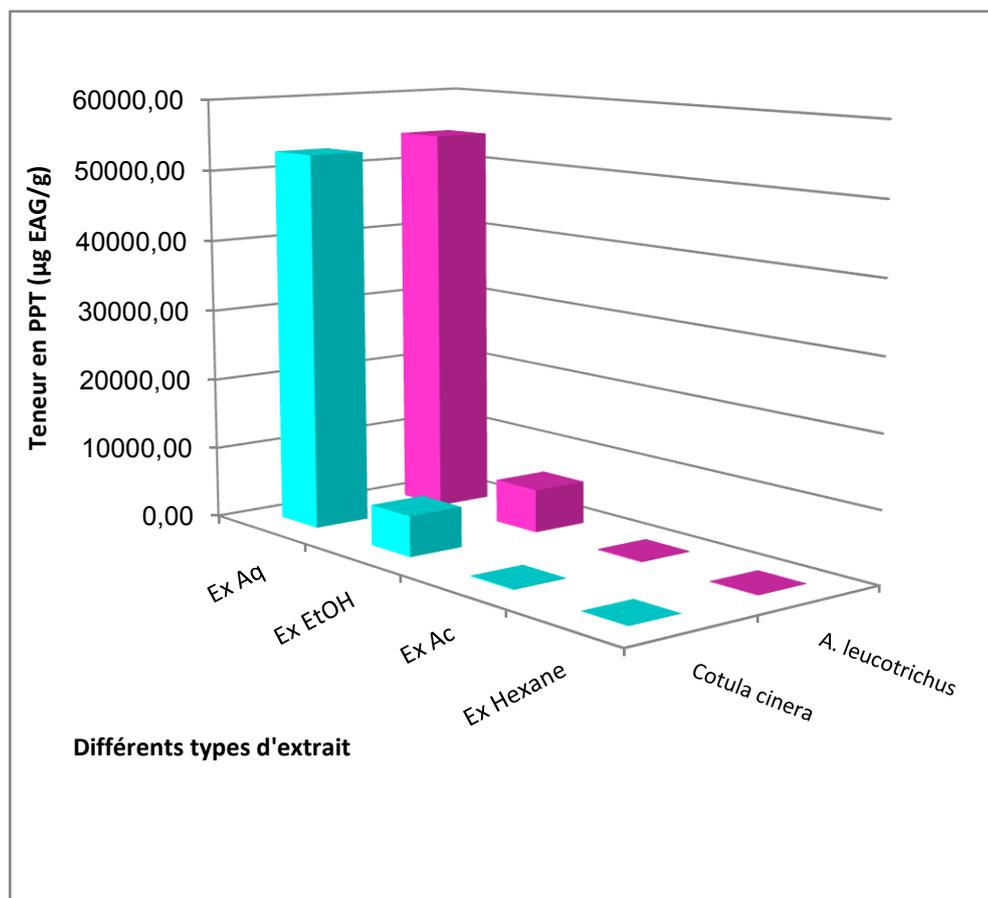


Figure 11 : Teneur en PPT des différents extraits de *Cotula cinera* et *Ammodaucus leucotrichus*.

A fin de déterminer l'influence du type de solvant sur les grandeurs mesurées on remarque que l'influence de type de solvant sur le taux de PPT et Ft est significative.

La teneur en PPT par l'extraction aqueux est très élevée, dont l'eau s'agit le solvant le plus polaire. Il est extraire les composés polaires qui sont particulièrement les composés phénoliques glycosylés, il y a une possibilité d'extraction de quelques acides aminées aromatiques car ils sont capable de réagir avec le folin-ciocalteau, puis l'éthanol, moyennement polaire, qu'il est extraire les PPT avec une teneur faible par rapport au solvant aqueux, l'acétone et l'hexane ont des teneurs en PPT très faible. C'est la preuve sur la présence des polyphénols apolaires.

Donc les deux plantes ont des polyphénols polaires à grandes pourcentages et polyphénols moyennement polaire à concentration faible et des polyphénols apolaires à faible quantités. La teneur en PPT est proportionnelle au polarité de solvant d'extraction.

3.3.-Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Cotula cinerea* et *Ammodaucus leucotrichus*

Tableau 4: Teneur donnée en (μg) de flavonoïdes totaux en fonction du type d'extrait.

Type d'extrait	<i>Cotula cinerea</i>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>
Extrait aqueux (Ex Aq)	854,54 \pm 20,99	921,21 \pm 73,48
Extrait éthanol (Ex EtOH)	587,87 \pm 96,20	612,12 \pm 45,75
Extrait acétone (Ex AC)	85,54 \pm 9,62	61,21 \pm 7,34
Extrait hexane (Ex Hexane)	23,56 \pm 1,21	34,16 \pm 0,33

La teneur en flavonoïdes des extraits à été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (KIM *et al.*, 2003).

Les résultats obtenues ont montré que les teneurs en flavonoïdes totaux (Ft) varient en fonction du solvant utilisé, la (Figure 12) représente les teneurs en Ft selon les solvants utilisés (aqueuse, éthanol, acétone, hexane).

Pour la teneur en Ft de *Cotula cinerea* :

La teneur la plus élevée en Ft est obtenue par l'extraction aqueuse équivalant de rutine /g de poids sec de matériel végétal, elle est de 854,54 \pm 20,99 μg , et pour l'extraction éthanolique sa valeur est intermédiaire elle est de 587,87 \pm 96,20 μg , la teneur en Ft obtenue par extraction à l'acétone est faible, elle est de 85,54 \pm 9,62 μg et l'extraction par l'hexane est prise la valeur la plus faible, elle est de 23,56 \pm 1,21 μg (Tableau 4).

Pour la teneur en Ft de l'espèce *Ammodaucus leucotrichus* :

La teneur la plus élevée en Ft est obtenue par l'extraction aqueuse en équivalant de rutine /g de poids sec de matériel végétal, elle est de 921,21 \pm 73,48 μg , pour l'extraction éthanolique sa valeur est intermédiaire de 612,12 \pm 45,75 μg mais la teneur en Ft obtenue par extraction à l'acétone est faible, ce teneur est de 61,21 \pm 7,34 μg , aussi la teneur en Ft obtenue par extraction au hexane qui prend une valeur de 34,16 \pm 0,33 μg est représentée la valeur la plus faible (Tableau 4).

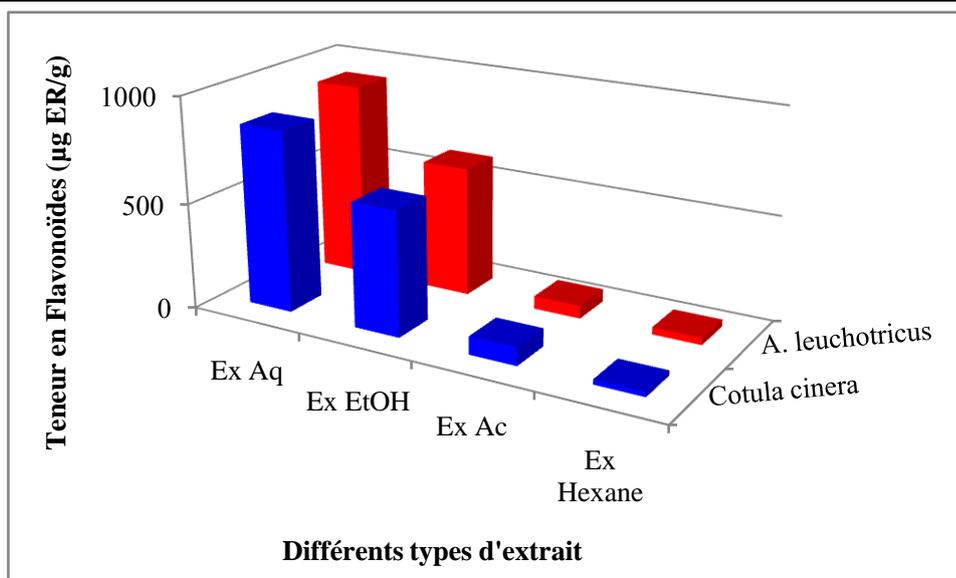


Figure 12 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Cotula cinera* et *Ammodaucus leucotrichus*.

La meilleure teneur en Ft a été avoir par l'extraction aqueux dont la polarité d'eau permet d'extraire le maximum de flavonoïdes polaires, puis l'extrait éthanolique à teneur intermédiaire; ce qui montre la présence des flavonoïdes moyennement polaires à pourcentage intermédiaire, et pour l'extraction par l'acétone et l'hexane ont des teneurs faible en flavonoïdes, ce qu'exprime la présence des flavonoïdes apolaires et surtout pour l'hexane.

Donc les deux plantes sont riche en flavonoïdes polaire et comportent des flavonoïdes moyennement polaire avec une quantité moyenne, aussi contiennent des flavonoïdes apolaire en pourcentage faible.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le choix du sujet est basé principalement sur l'utilisation traditionnelle des espèces endémiques qui sont *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* de notre région. Ce travail a comme objectif de trouver le meilleur solvant pour l'extraction des principes actifs en particulier les polyphénols et les flavonoïdes.

L'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes est effectuée par macération de 3g de chaque échantillon séché et broyer sous forme du poudre par 4 types de solvants de polarités différentes (eau, éthanol, acétone, hexane).

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux pour *Cotula cinerea* et l'extrait acétonique pour *Ammodaucus leucotrichus* présentent les rendements les plus élevés en comparaison avec les autres extraits, qui sont 2,66% et 4,16% respectivement.

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les taux les plus élevés des polyphénols sont enregistrés pour les extraits aqueux des deux espèces avec des taux de $54364,58 \pm 1398,01 \mu\text{g}$ pour *Ammodaucus leucotrichus* et de $52812,50 \pm 891,04 \mu\text{g}$ en équivalent d'acide gallique /g pour *Cotula cinerea*, alors que les extraits d'acétone et d'hexane ont les teneurs les plus faibles en polyphénols pour les deux espèces. Nous avons aussi déterminé la teneur en flavonoïdes par la méthode de KIM et al. (2003). Nous avons enregistré les mêmes résultats pour les flavonoïdes, où les extraits aqueux des deux espèces présentent les teneurs les plus élevées. Ces résultats montrent que les composés phénoliques de ces deux espèces sont en majorité glycosylés (polaire).

Ce travail peut être approfondi en étudiant le profil phénolique de ces variétés des plantes et déterminer les activités biologiques pour chaque famille chimique des polyphénols. En plus, l'étude approfondie de la relation entre les composés phénoliques et l'activité antibactérienne et anti-oxydante permettra de comprendre et d'élucider les mécanismes possibles pour la fonctionnalité de la médecine traditionnelle pour les traitements de certains problèmes de santé, et même d'autres études des autres activités antifongique, activité anti-inflammatoire et activité anti-cancéreuse ... permet de montrer l'importance des deux plantes *Ammodaucus leucotrichus* et *Cotula cinerea* comme plantes médicinales endémiques et agent protecteur de la santé.

A

ANDERSON C.M., HALLBERG, A. et HOGBERG T., (1996)- Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28 : 65-180

B

BERUBE-GAGNON J., (2006)- Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Université du Québec à Chicoutimi (Canada),

BIGLARI F., AL KARKHI A.F.M. et EASA A.M., (2008)- Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera* L.): Effect of long-term cold storage. *Food Chem.* 112:998-1001.

BIGLARI F., AL KARKHI A.F.M. et EASA A.M., (2008)- Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits from Iran. *Food Chem.* 107:1636-1641.

BOIZOT N. et CHARPENTIER J., (2006)- Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA, numéro spécial, p. 81.

BRUNETON J., (1999) - Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

BRUNETON J., (2009)- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4e édition. Editions Tec&Doc, Paris.

BRUNETON J., (1999)- Tannins. In: *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales*, TEC&DOC (Ed.), Paris, pp. 369-404.

C

CAMILLERI et SNOUSSI., (2012)- L'éternelle jeunesse: L'art de bien vieillir . Par Jean-Pierre Camilleri, Achref Snoussi 75005 Paris.

CHUNG K., WONG T.Y., WEI C., HUANG Y. et LIN Y., (1998) - Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 421-464.

CIPEA., (1989)- BULLETIN DU CIPEA N° 35, centre international pour l'élevage en Afrique

COLLIN S. et CROUZET J., (2011)- Polyphénols et procédés: transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire.ed.

CROZIER A., CLIFFORD M.N. et ASHIHARA H., (2006) - Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

D

DESCHEEMAEKER K. et PROVOOST C.,(1999)- Impact van voeding op gezondheid. Recente ontwikkelingen – 1.

E

EDENHARDER R. et GRÜNHAGE D., (2003) - Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.

F

FEUCHT W. et TREUTTER D., (1999)- The role of flavan-3-ols and proanthocyanidins in plant defense. In: *Principles and practices in chemical ecology*, PRESS et BOCA RATON (Eds.), pp. 307-338.

FLET C., (1984)- Les substances naturelles sources de médicaments nouveaux, Ed. Le Moniteur, p556).

FRANK S., VALERIE G. et MARTINE B., (2009)- Génétique moléculaire des plantes – Collection Synthèses – Éditions Quae – 230 p. – isbn 978-2-7592-0294-2

G

GIROTTI - CHANU C., (2006)- Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés d'un derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis* , Ecole doctorale interdisciplinaire science - Santé, Formation doctorale : Biochimie, (Thèse de Doctorat).

H

MILAINÉ H., (2004)- La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro - oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Université Louis Pasteur Strasbourg 1 Domaine : pharmacochimie, (Thèse de Doctorat).

HASSIG A., SCHWABL H. et STAMPFLI K., (1999)- Flavonoids and tannins: plantbased antioxidants with vitamin character. *Med. Hypotheses* 52, 479-481.

HAVSTEEN B.H., (2002)- The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96: 67– 202.

HENNEBELLE T., SAHPAZ S. ET BAILLEUL F., (2004) - Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.

I

ISERIN P., (2001)- Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.

ISOREZ G., (2007)- Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments du vins rouges.

IUCN., (2005)- centre for Mediterranean cooperation, A guide to medicinal plants in North Africa. Malaga (Spain).

J

JUNG Y.D. et ELLIS L.M., (2001)- Inhibition of tumour evasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *Int. J. Exp. Path.* 82, 309-316.

K

KIM D.O., CHUN O.K., KIM Y. J., MOON H.Y., et LEE C.Y., (2003)- Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*.

KIM D.O., JEONG S.W. et LEE C.Y., (2003) - Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81: 321–326.

KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C. et ABDELLEY. C., (2007) - Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249.

L

LARHSINI M., MARKOUK M., JAOUHARI J.T., BEKKOUCHE K., LAZREK H.B. et JANA, M., (2002) - The antipyretic activity of some Moroccan medicinal plants. *Phytother Res*, 1: S97-8.

LEONG LP. et SHUI G., (2002)- An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.

LIM Y.Y., LIM T.T. et TEE J.J., (2007)- Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* 103, 1003-1008.

M

MACHEIX J. J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C., (2005)- Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. Collection Biologie 192 pages.

MARKOUK M., BEKKOUCHE K., LARHSINI M., BOUSAID M., LAZREK H.B. et JANA M., (2000)- Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for larvicidal activity. *J. Ethnopharmacol*, 73: 293–297.

MARKOUK M., REDWANE A., LAZREK H.B., JANA M. et BENJAMA A., (1999)- Antibacterial activity of *Cotula cinerea* Extracts. *Fitoterapia*, 70: 314-316.

MIDDLETON E., KANDASWAMI C. et THEOHARIDES T.C., (2000)- The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673 839.

N

NIJVELDT R. J., NOOD E., HOORN D. E., BOELENS P. G., NORREN K. et LEEUWEN P., (2001)- Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74 : 418–425.

NKHILI E., (2009)- Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat. Avignon. p. 327.

Q

QUEZEL P. et SANTA S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

R

RICHELLE M., TAVAZZI I. et OFFORD E., (2001)- Comparison of the antioxidant activity of commonly beverages (coffee, cacao, and tea) prepared per cup serving. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3438-3442.

ROBINSON MM. et ZHANG X., (2011)- World Health Organization. Geneva.

ROGER DAJOZ., (2010)- Dictionnaire d'entomologie: Anatomie, systématique, biologie. Tec & Doc Lavoisier.

ROUX D. et CATIER O., (2007)- *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie.* 3e éd. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer.

S

SANTOS-BUELGA C. et SCALBERT A., (2000)- Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Food Sci. Agric.* (in press).

SINGLETON V., ROSSI J., (1965)- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16: 144-158.

U

UNESCO., (1963)- recherche sur la zone aride: Nomades et nomadisme au Sahara.

V

VERBOIS S., (2002)- Les plantes qui guérissent le corps et l'esprit. Trajectoire.

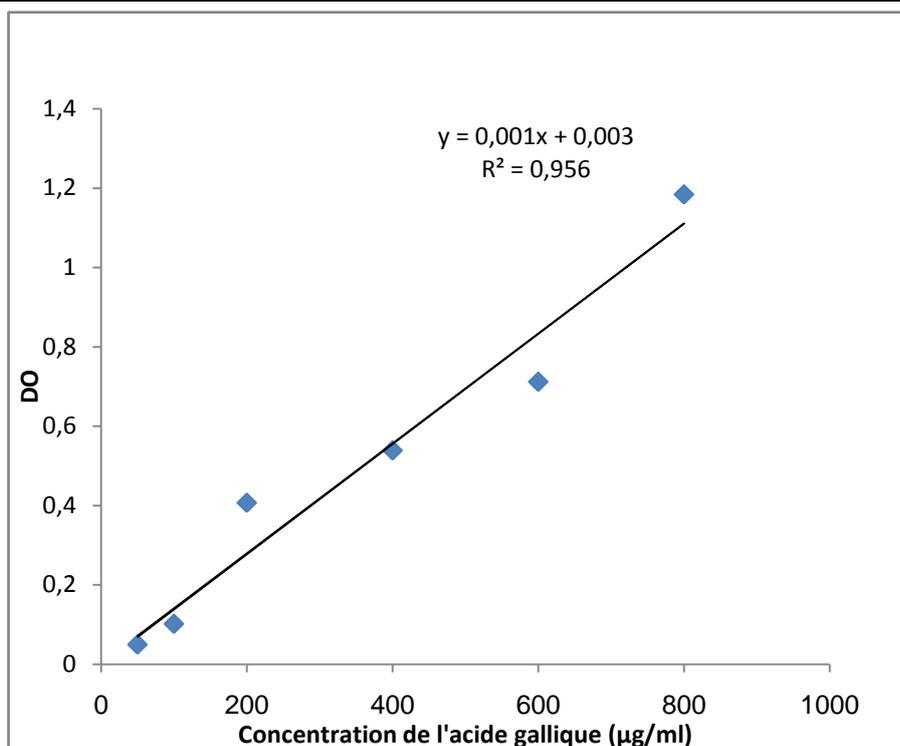
VERCAUTEREN J., CHÈZE C. et TRIAUD J.,(1998)- Polyphenols 96: 18th International Conference on Polyphenols, Bordeaux ...,Paris.

W

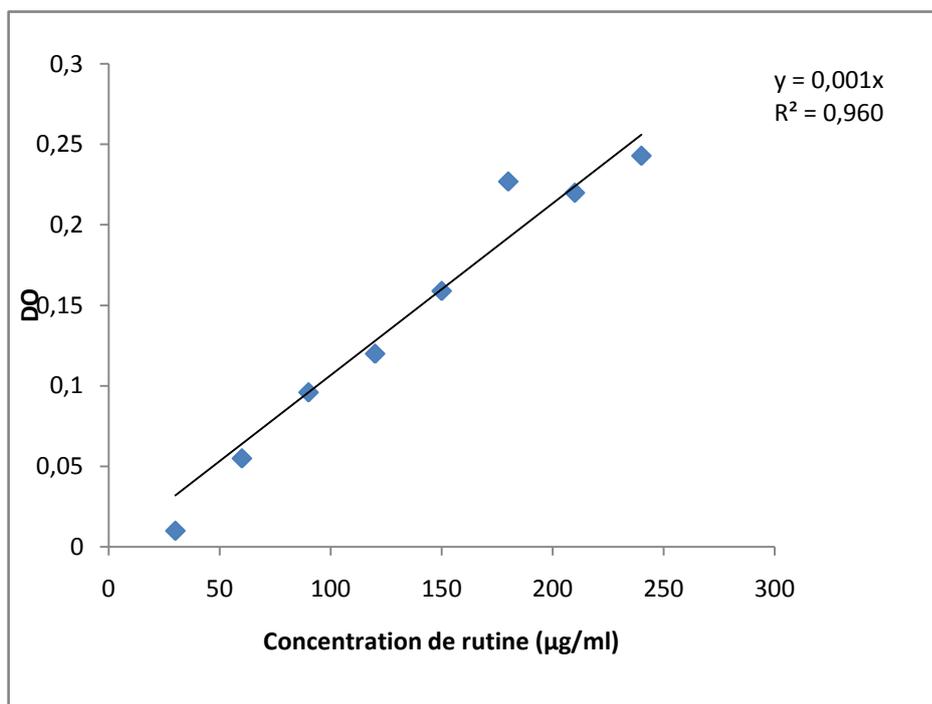
WATERHOUSE A.L., (2001)- Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, I1.1.1-I1.1.8.

WINK M., (2010)-Biochemistry of Plant Secondary Metabolism; Annual Plant Reviews 40; Ed: WILEY-BLACKWELL, p: 1-23.

Annexes



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de rutine



Annexe 3 : Cette figure représente le Spectrophotomètre (original).