



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé:

**L'étude phytochimique des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) des deux variétés
WAHA et VITRON et l'évolution de leur activité antioxydante.**

Présenté et soutenu par :

Le : 20/06/2017

- **BARA Mouna**
- **HAMADOU Hadjer**

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUSBA.B

(MAB-UFM Constantine 1)

Rapporteur : MERGHEM .R

(Pr-UFM Constantine 1)

Examinatrice :BALBACHE .H

(MAA-UFM Constantine 1)

Année universitaire
2016 - 2017

Remerciement :

Nous remercions piètements Allah le tout puissant de s'être donné le courage et la volonté de mener à terme ce présent travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à l'encontre de nos parents qui nous ont enseigné la patience, la politesse le sacrifice et qui ont toujours là pour nous.

Nous tendrons à présenter nos grandes reconnaissances à nos encadreur prof MERGHEM, Rachid et grande vifs ainsi que Notre profondes gratitude pour avoir orienté, dirigé ce travail et pour tous ses conseils.

Notre remerciement les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tendrons également à remercier et exprimer nos profond respect aux membres de jury sous les noms: BOUSABA Bachir et BELBACHE Hanane d'avoir accepté de juger ce travail.

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

SOMMAIRE :

Introduction générale.....01-02

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Les feuilles de blé.....03

1 Description et classification de blé dur(triticum durum Dsf).....04

2Classification des Triticum :.....05

3 Les feuilles de blé.....05

3.1.Description des feuilles:..... 05

3.2Composition des feuilles de blé.....05

3.3 les composés phénoliques présents dans les feuilles de blé :.....06

3.4 Intérêt thérapeutique:.....07

3.4.1/ Le vieillissement:.....07

3.4.2/ la réparation de l'ADN :.....07

3.4.3/Anémie:.....07

3.4.4/Autres indications thérapeutiques.....08

Chapitre02 : les composés phénolique :

1. Généralités :.....10

2. Biosynthèse des polyphénols :.....11

2.1La voie de shikimate :.....11

2.2 La voie de phénylpropanoïde:.....12

2.3 La voie de biosynthèse des flavonoïdes :.....13

3 Rôle biologique des composés phénoliques :.....14

4 Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques :.....15

5 Classification des polyphénols :.....16

5.1 / Les acides phénoliques simples :.....16

5.1.1 / Acides hydroxycinnamiquesC6-C3:.....16

5.1.2 / Acides hydroxybenzoïques.....16

5-2 / Les flavonoïdes :.....17

5-2-1 / Généralités:.....17

5.2.2 / Structure :.....17

5.2.3/ Différents types de flavonoïdes :.....17

5.2.4/ Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes.....18

5.2.4.1/Activité antioxydant :.....	18
5.2.4.2/ Activité anti-inflammatoire:.....	18
5.2.4.3/Activité cardiovasculaire:.....	19

Chapitre03 :Stress oxydant

1/Stress oxydant :.....	21
2/Activité antioxydante	21
3/Définition d'un radical libre.....	21
4/Implications pathologiques du stress oxydatif :.....	22
5/ Antioxydants	23
5.1/ Définition.....	23
5.2/ Les polyphénols comme antioxydants :.....	23
5.2.1 / Inhibition enzymatique	23
5.2.2/Chélation des ions métalliques	24
5.2.3/ Piégeage des radicaux libres.....	24

Chapitre04 :Polyphénols et santé humaine

Introduction.....	26
1\Propriétés biologiques et modes d'action des polyphénols :.....	26
2 \Les polyphénols:descandidatsprometteurspour la préservation de la santé cardiovasculaire chez l'homme :.....	27-28

PARTIE PRATIQUE

Matériel et Méthode

I.Matériel végétal.....	30
1/ La semence.....	30
2/ La récolte et le séchage.....	31
II.Extraction.....	31
1/ Traitement préliminaire (Broyage).....	31
2/ Extraction solide-liquide.....	31
2-1/Macération.....	31
2-1-1/Principe.....	31
2-1-2/Méthode.....	32
2-2/Extraction au soxhlet.....	32
2.2-1/ Principe.....	32
2.2-2/Méthode.....	32

3/ Extraction liquide-liquide (Partition entre solvants)	33
3-1/ Protocole.....	33
III.Etude quantitative.....	34
1/ Dosage des phénols totaux par colorimétrie.....	34
1-1/ Principe de dosage.....	34
1-2/ Méthode.....	34
2-Dosage des flavonoïdes :.....	35
*/Protocole :	35
IV.Etude qualitative.....	36
1/ La chromatographie analytique sur couche mince (CCM).....	36
1-1/ Principe de la CCM.....	36
1.2/ Mode opératoire	36
1-2-A/ Préparation de la phase stationnaire.....	36
1-2-B/ Préparation de la phase mobile.....	36
1-2-C/ Dépôt.....	36
1-2-D/ Développement des plaques	37
1.2-E /Visualisation des plaques	37
1-3/Identification :.....	37
a)Relation R _f -Structure.....	37
b)Relation Structure-Fluorescence.....	38
4 / CCM préparative :.....	38
Objectif.....	38
1/ principe	38
2/ Spectrométrie UV-visible	39
*spectre UVdes flavonoïdes	39
5. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits	39
1/Principe.....	39
2/ Protocol.....	40

Résultats et Discussion

I-Etude quantitative.....	42
1/ Dosage des phénols totaux.....	42
Teneurs en phénols totaux dans les extraits méthanoliques	42
2/Dosage des flavonoïdes :.....	43

Teneurs en flavonoides dans les extraits méthanoliques	44
3/ Teneurs en polyphénols et en flavonoides dans l'extrait de 1g de Soxhlet	44
II\Résultats de l'évaluation du pouvoir anti-oxydant par le DPPH :.....	45
1\Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH* :.....	45
2\Activité anti-radicalaire des composés phénoliques testés :.....	46-47
3\Interprétation des phases :.....	48
III/Résultats de l'étude qualitative.....	49
1/Diagnostic par chromatographie analytique sur couche mince:.....	49-53
2/ Analyse spectrale et identification des composés possibles	54-57
3/L CCM Préparative.....	58
Séparation des flavonoides :.....	57-60
L'identification des molécules	61-66
Conclusion.....	67
Résumé	
Références	
Annexes	

ABREVEATIONS :

AcOEt : Acétate d'éthyle

AcOH : Acide acétique

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ang II : angiotensine II

ARN : Acide ribonucléique

AT1R : récepteur à l'angiotensine II de type 1

AVC :accident vasculaire cérébral

BBCH : Biologische Bundesanstalt bunders sortenamnt and Chemical industry

CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase

CCM : Chromatographie sur couche mince

CCR : Cinnamate CoA Réductase

CHI : Chalcone Flavanone Isomérase

CHS : Chalcone Synthase

COXs : cyclo-oxygénases

Cu+ : Cuivre

DPPH : 1,1-diphényl 2- picrylhydrazyl

EDE : Ether di ethylique

EAG :Equivalent acide gallique

EOR :espèces oxygénées réactives

Fl-OH :flavonoides

Fl-O• : Le radical aryloxyle

H₂O :Eau

H₂O₂ :Peroxyde d'hydrogène

LDL :Low density lipoproteines

MEC :Methyl Ethyl Cetone

MCV :Maladie cardiovasculaire

Me-OH : Methanols

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO : Monoxyde d'azote

O• : Anions superoxydes

OH• : Radical hydroxyle

OMS: L'Organisation mondiale de la Santé.

PAL : Phénylalanine AmmoniaLyase **R• :** Radical libre

NM : Nano mètre

Rf :Rapport frontal

ROO. :Peroxyle

SOD : Superoxyde dismutase

TAL : Tyrosine AmmoniaLyase

UV-V :Ultrat Violet-Visible

Teq : Temps à l'équilibre

Tol : Toluène

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 01 : taxonomie des triticum durum

Tableau02: Acides aminés essentiels de la plante (Wigmore,1984).

Tableau03 :valeur nutritive et le contenu en oligoéléments de la plante (Wigmore,1984).

Tableau04 : les flavonoïdes identifiés dans les feuilles de blé .

Tableau 05 : principales classes des composés phénoliques selon (Harborne ,1980 ; Machiex et al,1990)

Tableau06 : activités biologiques des composés polyphénoliques (frankel et al,1995)

Tableau07 : Principaux acides hydroxy cinnamiques (Sarni Manchado et Cheynier .2006)

Tableau08: Principaux acides hydroxy benzoïques (Sarni Manchado et Cheynier .2006)

Tableau09: Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al*, 2001; W- Erdman *et al*,2007)

Tableau 10 : Flavonoïdes et la prévention des maladies

Tableau 11 : Origine des deux variétés WAHA et VITRON.

Tableau 12:Volumes nécessaires et les concentrations correspondantes pour la préparation de la gamme étalon de l'acide gallique.

Tableau 13: Relation entre Rf et la structure (Yaou., 2001).

Tableau14:La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes(Lahouel M.,2005).

Tableau15 : teneur en polyphénols totaux de la variété VITRON

Tableau16 : teneur en polyphénols totaux de la variété WAHA

Tableau17:Concentration des flavonoïdes des extraits.

Tableau18 : teneur en polyphénols totaux de l'extrait 1g Soxhlet .

Tableau 19: teneur en flavonoïdes de de l'extrait 1g Soxhlet .

Tableau20: . Effet des différentes concentrations sur la cinétique de réduction .

Tableau 21 : Comportement chromatographique des phases , Acétate d'éthyle(A), MEC(M) et Eau (O) De la variété WAHA

Tableau 22 : Comportement chromatographique des phases , Acétate d'éthyle(A), MEC(M) et Eau (O) De la variété VITRON

Tableau 23 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase MEC des deux variétés WAHA et VITRON

Tableau24 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase Eau des deux variétés WAHA et VITRON

Tableau25 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase Acétate des deux variétés WAHA et VITRON

Tableau26: structures des molécules identifiées dans la phase MEC WAHA

Tableau27: structures des molécules identifiées dans la phase Acétate WAHA

Tableau28: structures des molécules identifiées dans la phase EAU. WAHA,

Tableau 29: structures des molécules identifiées dans la phase MEC ,VITRON

Tableau30: structures des molécules identifiées dans la phase Acétate ,VITRON

Tableau 31: les molécules identifiées dans la phase EAU,VITRON

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : blé dur *triticum durum*

Figure02 : Structure d'hémoglobine et la chlorophylle .

Figure03: La voie de shikimate (Floss, 1997)

Figure04: La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann et al, 2004)

Figure05: La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Figure06: structure de base des flavonoïdes (Alejandro et al., 2013)

Figure07 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant

Figure08 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées (Lee et al., 2004).

Figure 09 : Piégeage des EOR par les flavonoïdes

Figure10 : Modes d'action, propriétés biologiques des polyphénols et effets santé potentiels.

Figure11 : Courbe de croissance de l'herbe de blé dur chez les deux variétés WAHA et VITRON

Figure12 : la courbe de l'humidité de chaque variété WAHA et VITRON

Figure13 :Spectre d'absorption d'un flavonoïde(KhelfallahA,2013).

Figure14:Forme libre et réduit du DPPH(ParejoL,2002)

Figure15: courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure16: courbe d'étalonnage de la quercétine

Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH*

Figure18: Cinétique de réduction de [DPPH•] avec l'acide gallique

Figure 19:l'effet de la concentration sur la reduction du DPPH..

Figure20:CCM analytique représentative des flavonoïdes des phases: Totum (T),éther diéthylique (E),acétate (A) et MEC (M)des2variétés de blé

Figure21 : Spectres d'absorption de la phase Eau

Figure22 : Spectres d'absorption de la phase MEC

Figure23: Spectres d'absorption de la phase Acétate d'éthyle

Figure24 : Spectres d'absorption de la phase Ether diéthylique

Figure25: structure de la molécule identifiée dans la phase ether dihythylique, WAHA

Figure26: Structure des quatre flavones détectés dans les tiges et les feuilles de *Triticum durum cultivar (cv) Ofanto* (Cavaliere et al.,2005)

INTRODUCTION

Les composés phénoliques et les flavonoïdes en particuliers occupent une place importante en biochimie moléculaire. présents dans les aliments d'origine végétales ont montré un grand intérêt ces dernières décennies plusieurs polyphénols ont été isolés et identifiés à partir des plantes et leurs activités pharmacologiques a été étudié (Crozier et al., 2015)], en raison de preuves de plus en plus convaincantes de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. l'intérêt a été stimulé principalement par des études épidémiologiques indiquant une association inverse entre la consommation d'aliments riches en ces composés phénoliques (Flavonols et flavones) et l'incidence des maladies non transmissibles comme les maladies cardiovasculaires, ces composés sont capables d'augmenter la formation endothéliale de facteurs vasoprotecteurs comme le monoxyde d'azote, un puissant vasodilatateur et un inhibiteur de la réponse proinflammatoire et prothrombotique (Cyril Auger, Valérie B. Schini-Kerth, 2014).

Au cours des dernières années des études porté sur l'intérêt des feuilles des céréales ou l'herbe Ces études ont montré la richesse des feuilles en composés phénoliques lesquels possèdent un grand pouvoir antioxydant (Abdel et *al.*, 2006 ; Jonnala S et *al.*, 2010).

La présente étude a pour but de contribuer à la valorisation des deux variétés de blé dur WAHA et VITRON grâce à des études quantitatives et qualitatives des composés phénoliques présents dans les extraits de leurs feuilles

Cette étude permettra de dévoiler de nouvelles sources phytogénétiques riches en composés phénoliques dans le but de valoriser les feuilles de blé.

Notre travail présentera deux grandes parties :

La première partie sera consacrée aux données bibliographiques : aspect botanique, aspect phytochimique et nutritionnel. Elle décrit aussi les différentes classes des composés phénoliques ainsi que leur biosynthèse, répartition, rôles et intérêts biologiques. L'activité biologique principalement l'activité antioxydante.

La seconde partie comprend l'expérimentation qui a été réalisée au sein du laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Phytochimie de l'université Mentouri Constantine 1.

L'extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles de blé

La quantification des polyphénols , des flavonoïdes par des méthodes spectrophotométrique

L'analyse qualitative des différents extraits méthanolique obtenus après les traitements chimiques par chromatographie sur couche mince CCM

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanolique avec du 1,1 diphénylhydrazyl (DPPH) qui est un radicale libre qui a été utilisé dans de nombreux études scientifiques (Athamena et al., 2010 ; Ba et al., 2010; Cristina et al., 2009 ; N'gaman Kohue' et al., 2009 ; Sharma et Bhat, 2009),

Identification spectrale des molécules isolées de la CCM préparative

***CHAPITRE 01: LES FEUILLES DE
BLÉ***

1/ Description et classification de blé dur(*triticum durum* Dsf) :

le blé dur (*triticum durum* Dsf) est une plante annuelle de la classe des monocotylédones de la famille des poaceae , de la tribu des Triticée et du genre *triticum* (Feillet ,2000) .

En terme de production commerciale et d'alimentation humaine , cette espèce est la dixième plus importante du genre **triticum** après le blé tendre . Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet ,2000) .



Figure 01 : blé dur *triticum durum*

1.2/ Classification des triticum :

- Taxonomie et classification des triticum (Fiellet ,2000) :

Tableau 01 : taxonomie des triticum durum

Embranchement	spermaphyte
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Monocodyledone
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Sous-famille	Festucoideae
Tribu	Triticeae
Sous-tribu	Triticineae
Genre	Triticum
Espèce	Triticum durum dsf

En fonction de degré de ploïdie et d'après le nombre de leurs chromosomes , on différencie les blés diploïdes *triticum monococcum* ($2n=14$), les blés dur tétraploïdes *triticum durum* ($2n= 28$) et enfin les blés tendre hexaploïdes($2n= 48$)*triticum aestivum* (**Prats et Grandcourt, 1971 ,Beaugrand ,2004**).

3/ Les feuilles de blé :

3.1. Description des feuilles :

Les feuilles sont à limbe étroit, linéaire, à nervures parallèles à disposition généralement distique, avec une gaine ouverte, parfois fendue et une ligule prolongeant la gaine (plus rarement nulle ou représentée par des poils). Et quelques feuilles plus grandes que l'ont appelé "drapeaux", et qui se trouvent au sommet de la tige.

Morphologiquement le blé dur se différencie du blé tendre par un feuillage plus clair totalement glabre.

L'appareil végétatif est à tallage faible, à chaume long et souple (Olmedo,1995 ; Soltner, 2005).

3.2Composition de feuilles de blé :

Les feuilles de blé sont récoltées avant la phase de floraison quand il atteint 20-38cm. Cette plante a une grande valeur nutritionnelle : 3,5g d'herbe contient 860mg de protéines, 18,5 mg de chlorophylles 15mg de calcium, 38mg de lysine, 7,5mg de vitamine c, et un nombre de micronutriments comme le complexe de vitamine B et les acides aminées. Il est très riche en flavonoïdes et en composés phénoliques et également, carbohydrates, saponines (Satyavati et al., 2011).

Le blé est tellement riche en nutriments que 7 à 8 kilos d'herbe de blé équivaldraient à 175 kilos d'autres légumes ordinaires.

Les tableaux suivants indiquent les éléments nutritifs essentiels contenus dans l'herbe de blé (18-25 cm de hauteur)

Tableau 02: Acides aminés essentiels de la plante (Wigmore,1984).

Le jus des feuilles de blé contient des protéines complètes à 80%	
Acides aminés essentiels	mg/g de protein
Histidine	19
Isoleucine	31
Leucine	68
Lysine	54
Méthionine + Cystine	20
Phénylalanine + Tyrosine	76
Thréonine	42
Tryptophane	6
Valine	59

Tableau 03 : valeur nutritive et le contenu en oligoéléments de la plante (Wigmore,1984)

Nutriment	Unité	Quantité par 100g	Minéraux	Quantité
Énergie	Cal	21.00	Calcium	18 mg
Eau	G	95.00	Cuivre	2 mg
Protéine	G	1.42	Fer	2mg
Sucre	G	2.00	Magnésium	3.6 mg
Fibre	G	0.10	Phosphore	18 mg
Gras	G	0.06	Potassium	112 mg
/	/	/	Sodium	1 mg

3.3/ les composés phénoliques présents dans les feuilles de blé :

Les composés phénoliques sont des métabolites particulièrement intéressants par leurs propriétés thérapeutiques comme des molécules antioxydantes (Macheix et al ,2005).

Tableau 04 : les flavonoïdes identifiés dans les feuilles de blé

Aglycone	Classe	Auteurs
Apigénine	Flavones	Wojakowska A et al.,2012
Chrysoériol	//	//
Lutéoline	//	//
Quercétine	Flavonols	Peterson, 2001
Tricétine	Flavones	Wojakowska A et al.,2012
Tricétine triméthyl ether	//	//
Tricine	//	//

3.4/ Intérêt thérapeutique :

Depuis toujours, les plantes sont utilisées pour soulager les symptômes de plusieurs maladies.

Malgré les technologies avancées dans la médecine moderne, les plantes apportent une grande contribution grâce à leurs antioxydants naturels (Seyed hossein zendehbad., 2014).

Le jus des feuilles de blé a plusieurs effets bénéfiques pour aider le corps à corriger les anomalies :

3.4.1/ Le vieillissement :

La poudre de jus de feuilles de blé contient des composés qui neutralisent les radicaux superoxydes du corps et aide à ralentir le processus de vieillissement, éventuellement le développement des rides et des cheveux gris. En outre, ces composés peuvent aider à atténuer les effets des rayonnements et de ralentir le vieillissement cellulaire (Nadège, 2014).

3.4.2/ la réparation de l'ADN :

Les feuilles de blé ont la capacité de stimuler la production et la réparation naturelle du sperme humain et de l'ADN.

3.4.3/Anémie :

L'herbe de blé est riche en chlorophylle qui est une fibre alimentaire très important. La molécule de chlorophylle dans l'herbe de blé est presque identique a l'hémoglobine dans le sang de l'humain, la différence consiste en l'élément centrale : dans la chlorophylle c'est le Magnésium et dans l'hémoglobine c'est le fer. C'est pour ça l'herbe de blé est appelé 'le sang vert' (De vogel J et al, 2005).

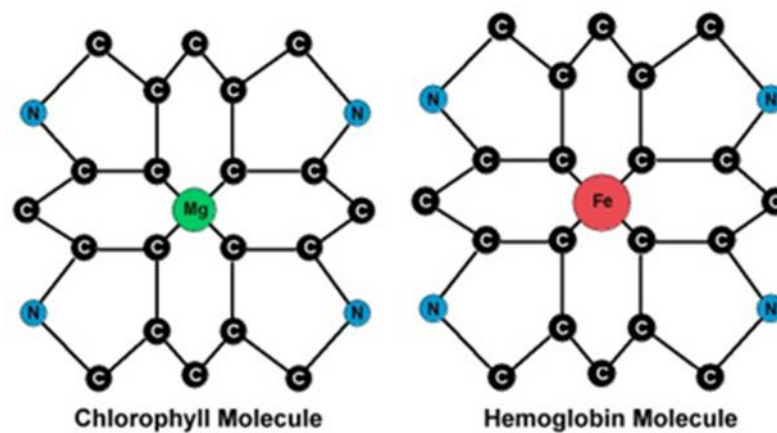


Figure02 : Structure d'hémoglobine et la chlorophylle .

3.5/Autres indications thérapeutiques :

Les travaux de (Wang et al.,2002) ont montré l'efficacité de l'utilisation du jus de feuilles de blé :

- Dans l'amélioration de la formule sanguine et comme agent détoxifiant.
- Dans le rétablissement de l'équilibre acido-basique grâce à sa richesse en magnésium.
- Dans la régulation du taux de sucre dans le sang chez les diabétiques

CHAPITRE 02 : LES POLYPHÉNOLS

1. Généralités :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal étant trouvés dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins. Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume).

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction: ether, ester, hétéroside.

Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou dérivés de l'acide cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines, tanins.

La nature et la fonction des composés phénoliques s'accumulant dans les plantes sont variables. Ils présentent des propriétés antimicrobiennes; ce sont des phytoalexines. Ces composés de défense regroupent différentes classes de composés tels que les iso flavonoïdes prénylés, les stilbènes, les coumarines, les flavonols ou encore les aurones.

D'autres composés ont des fonctions dans la signalisation comme l'acide salicylique, molécule signal dans les mécanismes de résistance. La blessure et l'attaque par des herbivores induisent la synthèse de l'acide chlorogénique ou d'esters phénoliques liés aux parois cellulaires, ces composés pouvant agir directement en tant que molécules de défense ou servir de précurseurs à la synthèse de la lignine, de la subérine et autres barrières polyphénoliques. Par ailleurs, la quantité d'anthocyanines augmente fortement après un stress au froid ou un stress nutritionnel.

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...).

CHAPITRE 02 : Les Polyphénols

Les composés phénoliques des plantes sont regroupés en différentes classes selon la structure de leur squelette de base (tableau 05)

Harborne ,1980 ; Machiex et al, 1990 ont classifié les composés phénoliques en se basant sur le nombre du carbone dans la molécule, On distingue :

- Les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)
- Les flavonoïdes (C6-C3-C6)
- Les lignanes (C6-C3-C3-C6)
- Les Tannins (C6-C3-C6)

Tableau 05 : principales classes des composés phénoliques selon (Harborne ,1980 ; Machiex et al,1990)

Squelette carboné :	Classes :	Exemples :	Origines(exemples) :
C6	Phénols simple	catéchols	Nombreux espèces
C6-C1	Acide hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïques	Epice ,fraise
C6-C3	Acide hydroxycinnamique Coumarines	Acide caféique Acide férulique Scopolétine	Pomme de terre , pomme Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes : • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • flavanones Isoflavonoïdes	Kampférol ,quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzeine	Fruits, légumes fleurs ,fruits rouges,pomme, raisin, Citrus Soja ,pois
(C6-C2)2	Lignanes	Pinorésinols	Pin
(C6 (C 15)	Tanins		Bois ,noyau des fruits Raisin rouge,KAKI

2. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par des plantes au cours de leur développement, Ces composés phytochimiques provenant de la phénylalanine et la tyrosine sont ubiquitaires dans les plantes (Pereira Nunes X et al., 2012) ; Ils sont eux- mêmes formés à partir des sucres simples issus du métabolisme primaire (Macheix, 2005),

Les polyphénols sont synthétisés généralement à partir de deux voies :

2.1 La voie de shikimate :

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Kening et al, 1995)

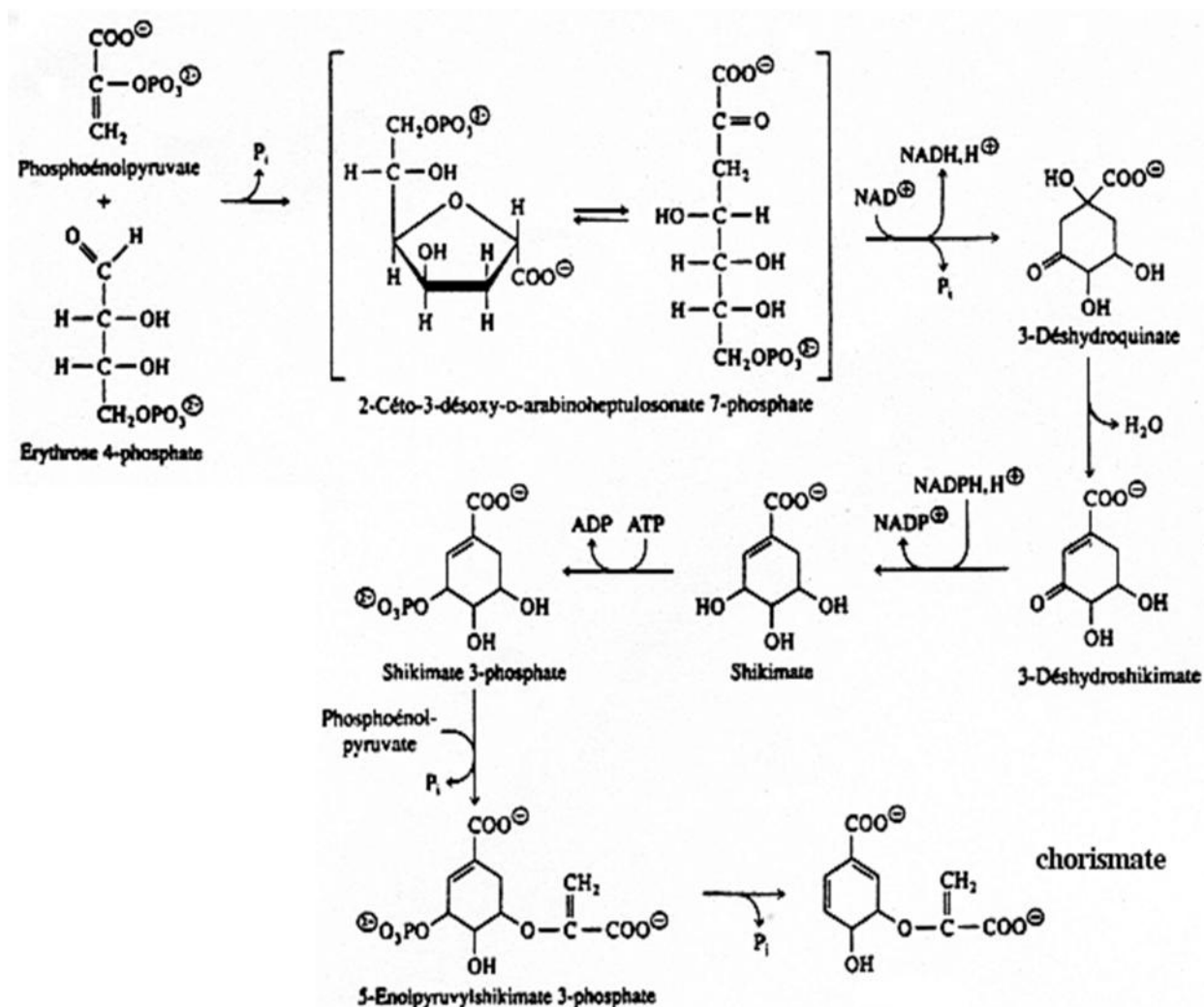


Figure 03: La voie de shikimate (Floss, 1997)

2.2 La voie de phénylpropanoïde:

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose

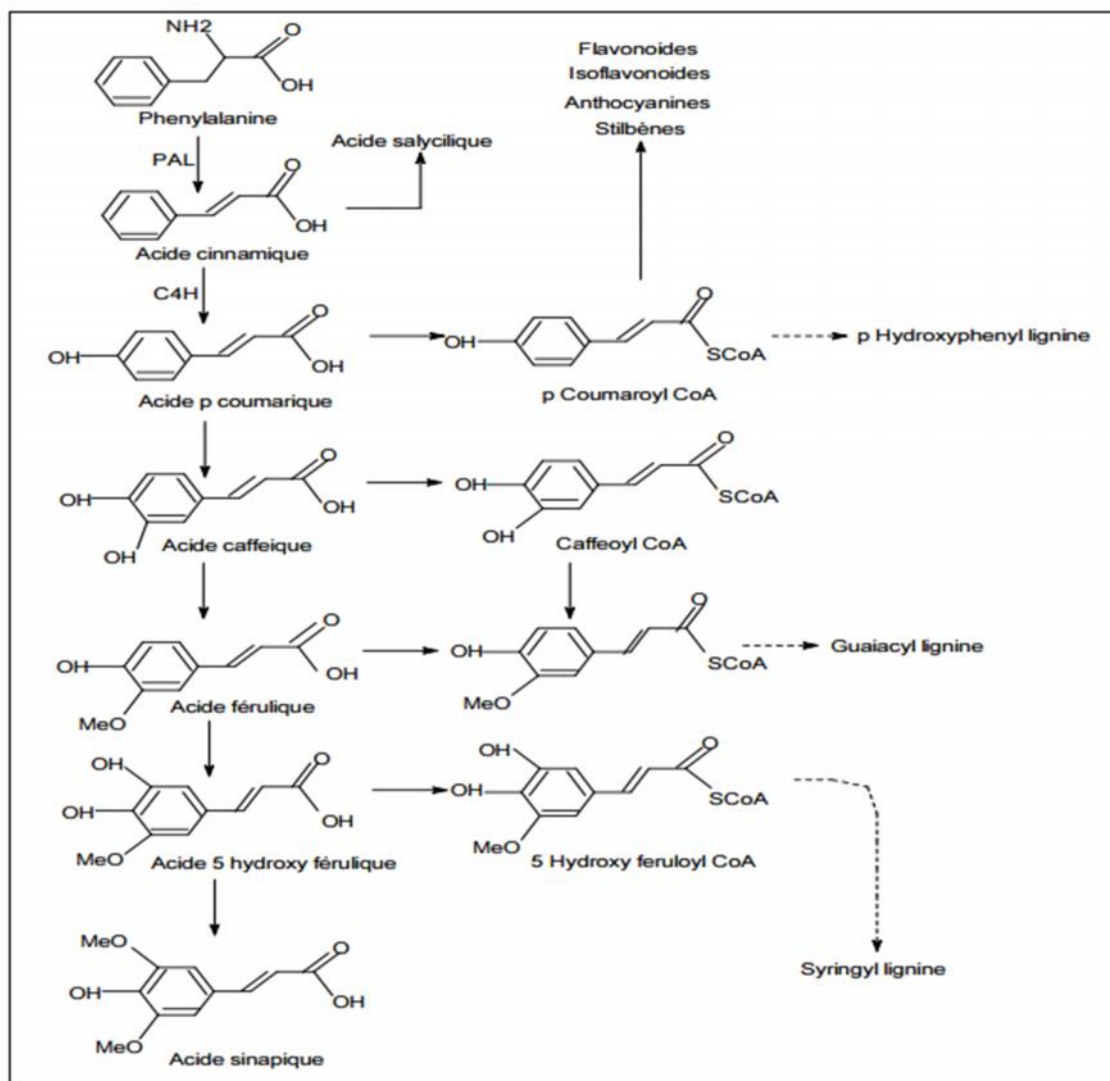


Figure 04: La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann et al, 2004)

2.3 La voie de biosynthèse des flavonoïdes :

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Figure05)

Les flavonoïdes résultent de la condensation de trois groupements acétates (fournis sous forme malonyl-CoA) avec l'acide 4 hydroxy cinnamoyl-CoA cette condensation conduit à la formation de 2 noyaux benzéniques –A et B – réunis par une chaîne de trois atomes de carbones (hétérocycle C) (Merghem R, 2009).

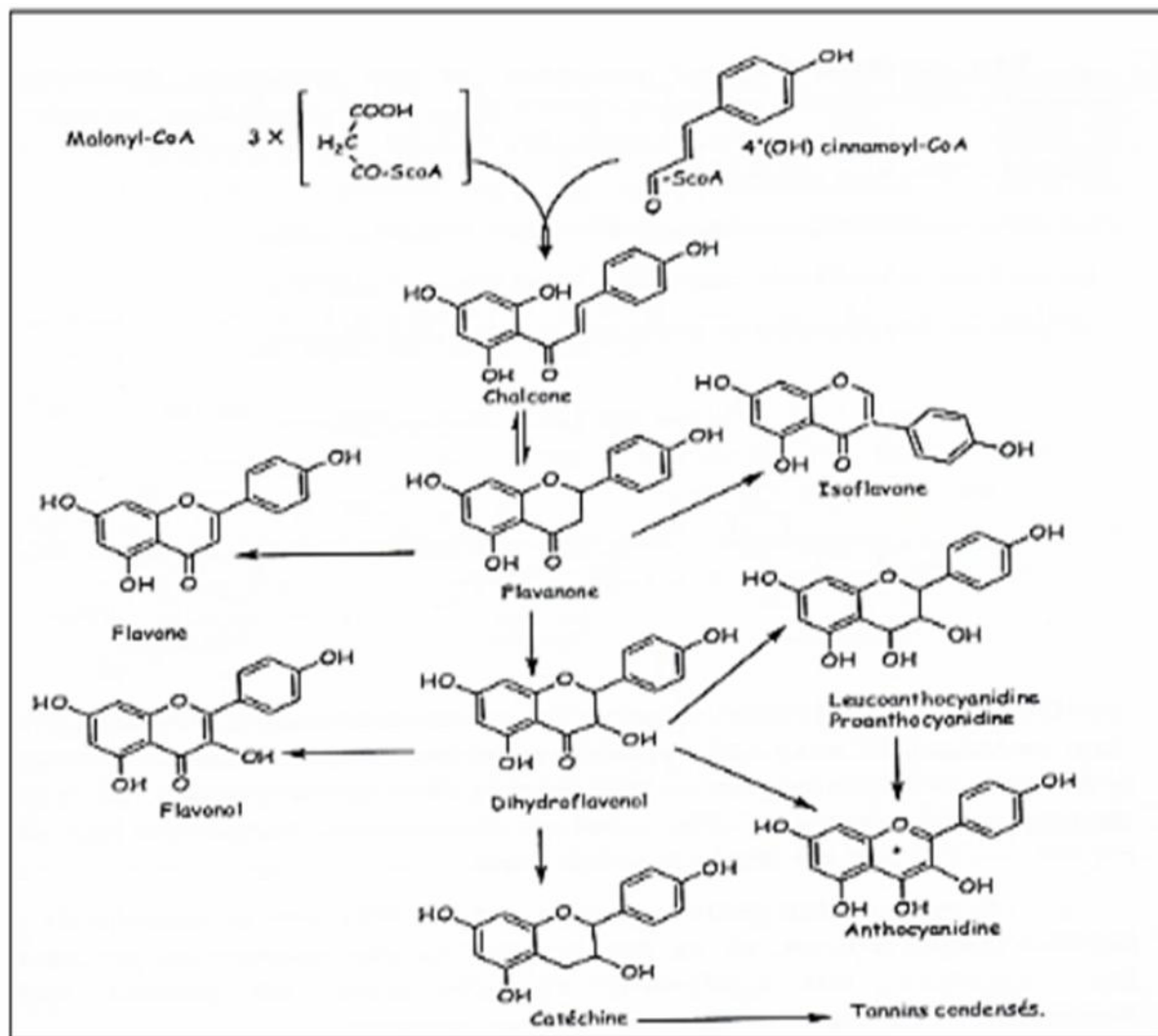


Figure 05 : La biosynthèse des flavonoïdes (Merghem ,R 2009)

3 Rôle biologique des composés phénoliques :

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies.

Les polyphénols sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle chez le rat, d'empêcher l'oxydation des LDL, d'inhiber la prolifération des cellules musculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire. Ils ont ainsi été décrits comme étant des antioxydants, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux

Tableau06 : activités biologiques des composés polyphénoliques (Frankel et al, 1995)

Polyphénols :	Activités :	Auteurs :
Acides phénols(cinnamiques,benzoïques)	Antibacteriens Antifongique antioxydants	(Didry et al,1982) (Ravn et al,1984) (HAYASE et Kato, 1984)
coumarines	Vasoprotectrices,antioedemateuse	(Mabry et Ulubelen ,1980)
Flavonoïdes	Antitumorales anticancirigènes anti-inflammatoires Hypotenseurs antioxydants	(Stavric et Matula , 1992) (Das et al ,1994) (Bidet et al ,1987) (Bruneton,1993) (Aruoma et al ,1995)
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	(Bruneton,1993)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongique Anti-inflammatoires	(Masquelier et al,1979) (Bahorun et al,1996) (DE Oliveira et al,1972) (Brawnlee et al,1992) (Kreofsky et al,1992)
Tanins galliques et catéchiques	antioxydants	(Okuda et al ,1983) (Okamura et al,1993)

4 Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques :

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique.

Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines. Les décès dus au infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont à associer au taux élevé des cholestérols du type LDL (Low density Lipoprotéines) circulant dans le sang.

Des études ont démontré qu'une consommation importante d'antioxydants phénoliques pouvait être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL (Frankel et al., 1995).

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumons, peau, vessie,...etc) à tout les stades de cancérogénèse.

Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormonodépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes [Scalbert et Williamson, 2000]. Enfin, les composés phénoliques et en

particulier, l'acide salicylique (acide hydroxybenzoïque) ont également des propriétés antiseptiques (Ribereau, 1964).

5 Classification des polyphénols :

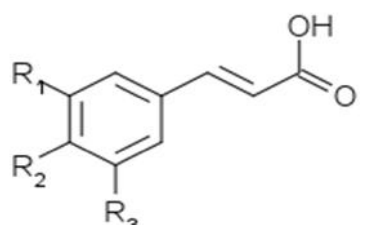
Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres Fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de Nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure

5.1 / Les acides phénoliques simples :

5.1.1 / Acides hydroxycinnamiques C6-C3 :

Dérivent de l'acide cinnamique Ont une structure générale de base de type (C6-C3) Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules.

Tableau 07 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni Manchado et Cheynier .2006)

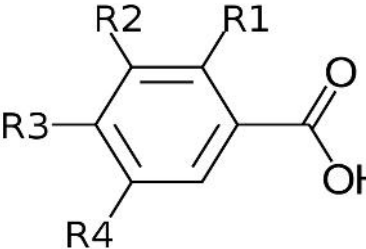
Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide coumarique
	OH	OH	H	Acidecaféique
	OCH3	OH	H	Acideférulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

5.1.2 / Acides hydroxybenzoïques :

Sont des dérivés de l'acide benzoïque Ont une structure générale de base de type (C6-C1) Existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides.

Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le **tableau08**

Tableau08 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni Manchado et Cheynier .2006)

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

5-2 / Les flavonoïdes :

5-2-1 / Généralités:

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (Karaali et al, 2004 ; Male et Kunti , 2007).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt et al, 2001)

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (Ghedira, 2005; Male et Kunti , 2007). Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (Medi -Šari et al, 2004)

5.2.2 / Structure :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze 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) (W-Erdman et al, 2007).

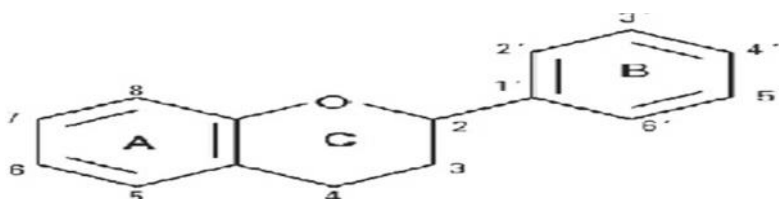


Figure06 : structure de base des flavonoïdes (Alejandro et al., 2013)

5.2.3/ Différents types de flavonoïdes :

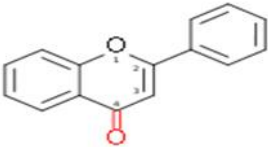
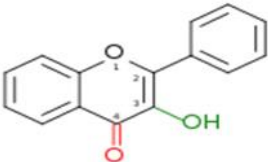
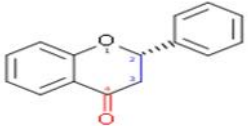
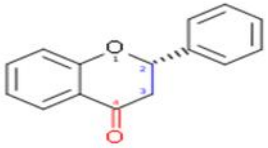
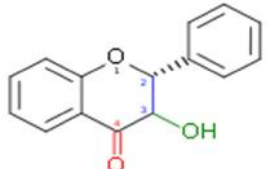
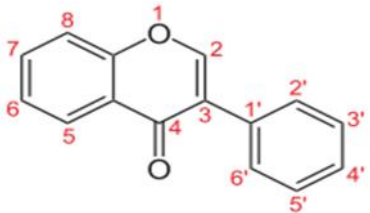
Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques).

Flavones et Flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment: la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine ;

CHAPITRE 02 : Les Polyphénols

Les Flavanones (naringénine) et les Flavanols (catéchine) ainsi que les Dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (**tableau 09**) (Narayana *et al*, 2001; W-Erdman *et al*,2007)

Tableau09 : Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al*, 2001; W- Erdman *et al*,2007)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Ex amples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéolines
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonoles		H	OH	H	Kaempférols
		OH	OH	H	Quecétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Petargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

5.2.4 Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été décrits comme agent de promotion de la santé avec des effets biologiques *in vitro* et éprouvés, telle que :

5.2.4.1/Activité antioxydant :

→ Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres, générées par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement et qui favorisent le vieillissement cellulaire (Karbin M et al., 2015). Parmi ces flavonoïdes : la rutine.

5.2.4.2/ Activité anti-inflammatoire :

→ Les flavonoïdes sont des agents protecteurs contre les inflammations chroniques, la Production excessive d'activateur de tissus en particulier les prostaglandines. Les flavonoïdes inhiber les enzymes clé implique dans biosynthèse de ces activateurs tissulaires (Karbin M et al., 2015). Parmi ces flavonoïdes nous citons la lutéoline.

5.2.4.3/Activité cardiovasculaire :

→ Les flavonoïdes ont des effets bénéfiques sur les paramètres associés à l'athérosclérose, y compris l'oxydation des lipoprotéines, l'agrégation des plaquettes du sang, et la réactivité vasculaire, les flavonoïdes jouent un rôle clé dans la réduction du risque de développer des maladies cardiovasculaires. Parmi ces flavonoïdes nous citons les flavonones.

En plus des activités biologiques décrites, les flavonoïdes présenter d'autres avantages pour la santé, pour les flavonoïdes d'instance ont antiallergique, anticoagulant, antiplaquettaire, activité antimicrobienne, activité antidiabétique (Karbin M et al., 2015).

Tableau 10 : Flavonoïdes et la prévention des maladies

Références	Flavonoïdes	Activités
Mercader et al 2008	Flavonoïdes	Inhibition de l'aldolase Réductase :prévention de cataracte chez les diabétiques
Cushnie et Lamb	Différents types des flavonoïdes (flavones, isoflavones flavonols)	Activité antifongique, antivirale, antibactérienne
Ziaee et al 2009	Rutine	Diminution de l'hypercholestérolémie chez les souris sous régime hypercholestérolémie
Hooper et al 2008	Différentes sous classes de flavonoïdes et aliments riches en flavonoïdes	Diminution du niveau de LDL diminution de la pression sanguine
Arts et al 2001	Catéchine	Prévention de la mort par cardiopathie ischémique
Kanagawa et al 2000	Quecétine , rutine	Limitation de la peroxydation des lipides dans les fractions lysosomales . Activité antioxydante grâce à leur localisation dans les membranes
Hurano et al 2001	Catéchine, épicatechine,épigollocatéchine,gallate Quecétine,apégénie, lutéoline	Inhibition de radicale DPPH Inhibition de l'oxydation du LDL
Kosmider et al 2004	Différents classes des flavonoïdes	Activité anti tumorale

CHAPITRE 03 : STRESS OXYDANT

1/ Stress oxydant :

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités anti oxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles (Pincemail et al. 1999).

En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser.

Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources anti oxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer.

2/Activité antioxydante :

La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agents différents : les protéines non enzymatiques, Les enzymes tels que les superoxyde-dismutases et les glutathion-peroxydases et enfin les antioxydants d'origine nutritionnelle tels que les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les polyphénols qui sont des antioxydants essentiels pour l'homme.

3/Définition d'un radical libre :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules.

Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique . Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde ROO•, radical alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule . L'ensemble des radicaux libres primaires est appelé "espèces oxygénées réactives " (EOR). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical

superoxyde $O_2\bullet$, radical hydroxyl $OH\bullet$, monoxyde d'azote $NO\bullet$, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet 1O_2 , peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peroxydinitrite $ONOO^-$.



Figure07 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant

4/Implications pathologiques du stress oxydatif :

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies (figure 08) comme facteur déclenchant ou associé à des complications (Favier, 2003). Il peut être associé à l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite, la cataractogénèse, l'hyperoxie, l'hépatite, l'attaque cardiaque, les vasospasmes, les traumatismes, les accidents vasculaires cérébraux, les pigments d'âge, les dermatites, les dommages de la rétine, les parodontites et les cancers (Cohen et al., 2000; Packer et Weber, 2001). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydatif apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses anti oxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (Favier, 2003)

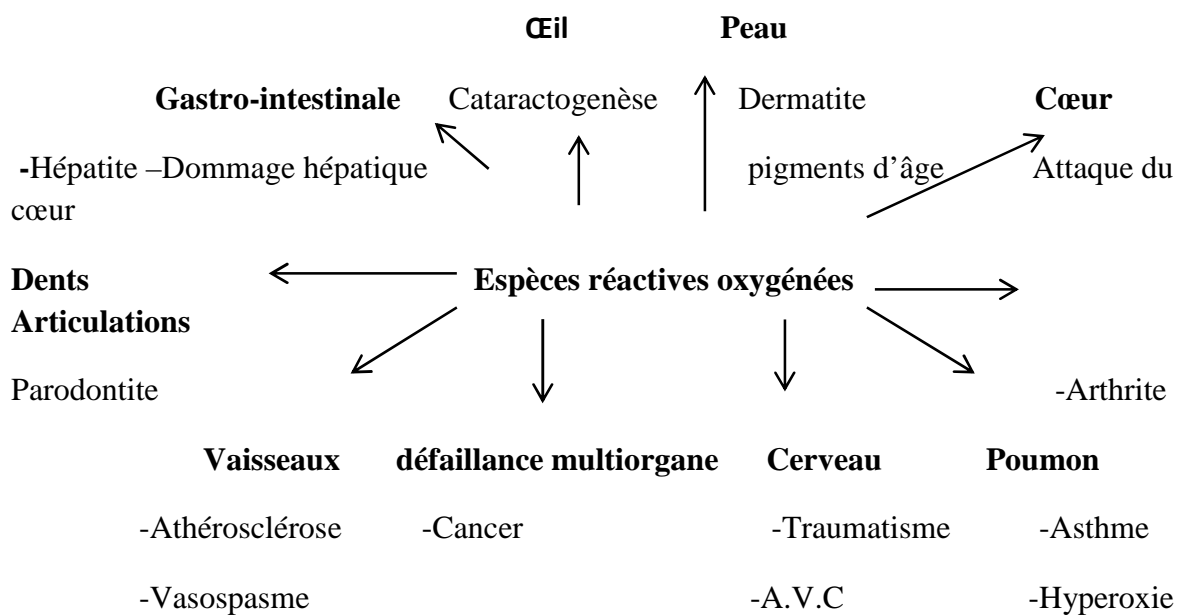


Figure 08 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées (Lee et al. 2004).

5/ Antioxydants

5.1. Définition

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Il est défini par HALLIWELL comme « toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres ,

5.2 Les polyphénols comme antioxydants :

- Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont (Halliwell, 1994) :
- Le piégeage direct des EOR ;
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR;
- La protection des systèmes de défense antioxydants.

Les polyphénols peuvent agir selon ces divers mécanismes.

5.2.1 / Inhibition enzymatique :

L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR.

Ce double action est bien illustré par le cas de la xanthine oxydase, cet enzyme est considérée comme une source biologique importante de radical super oxyde.

Hansaki et ses collaborateurs, dans une étude sur la maladie de la goutte, ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent prévenir cette maladie en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical super oxyde dans les tissus humains.²⁶ Cos et ses collaborateurs ont confirmé les résultats de Hansaki, et ont établi les relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité d'inhiber la formation de super oxyde par inhibition de la xanthine oxydase (formation de complexes enzyme-inhibiteur) et/ou par réduction du super oxyde produit .

5.2.2/Chélation des ions métalliques :

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques.

Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux du cuivre pour le super oxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton :



En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de superoxyde H_2O_2 . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante.

Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques.

5.2.3/ Piégeage des radicaux libres :

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, 32 les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (FI-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux super oxydes, peroxydes ($\text{ROO}\cdot$), alkoxydes ($\text{RO}\cdot$) et hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où $\text{X}\cdot$ représente l'un des EOR mentionnés ci-dessus.

Le radical aryloxyde ($\text{FI-O}\cdot$) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Figure10)

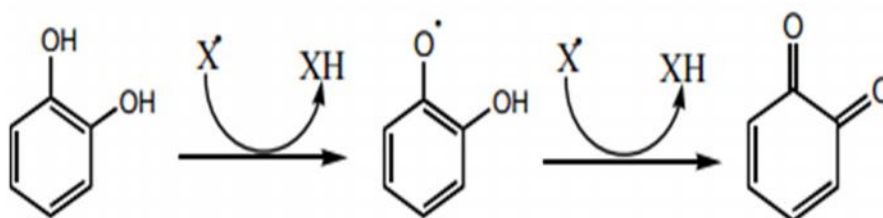


Figure 09 : Piégeage des EOR par les flavonoïdes

CHAPITRE 04 :
POLYPHÉNOLS ET SANTÉ HUMAINE

Introduction :

L'alimentation est une composante déterminante dans la prévention primaire de nombreuses maladies chroniques associées au vieillissement comme les maladies cardiovasculaires (MCV), le diabète de type 2. Les MCV sont la première cause de mortalité et de morbidité dans le monde et d'après les projections de l'OMS, cette situation devrait perdurer dans les vingt prochaines années (Mathers et Loncar, 2006).

la plupart des MCV (cardiopathie coronarienne, accident vasculaire cérébral (AVC)) sont des complications de l'athérosclérose, une pathologie inflammatoire chronique caractérisée par le développement des plaques d'athérome au niveau des artères (Libby, 2002). Ce dépôt gras sur les parois internes des vaisseaux empêche le sang de parvenir au cœur ou au cerveau. Les facteurs de risque cardiovasculaire (tabac, dyslipidémies, hypertension, obésité, diabète) créent un environnement pro oxydant et pro-inflammatoire à l'origine de son développement. Les phases précoces du développement de l'athérosclérose sont « silencieuses », les symptômes cliniques ne se manifestant qu'après plusieurs années. La prévention de cette pathologie, plus encore que son traitement, est donc capitale. A cet égard, la qualité de l'alimentation joue un rôle déterminant.

1\Propriétés biologiques et modes d'action des polyphénols :

Historiquement, ce qui a fait la popularité et suscité l'engouement pour les polyphénols alimentaires c'est le fait qu'ils étaient considérés comme des antioxydants puissants, capables de piéger les radicaux libres et ainsi réduire le stress oxydant au niveau de l'organisme.

Les faibles taux circulants de polyphénols (maximum quelques $\mu\text{mol/L}$) par rapport à ceux des autres antioxydants endogènes (GSH, acide urique) ou exogènes (Vit E, Vit C) ne permettent pas d'envisager une action anti-oxydante directe des polyphénols dans l'organisme

Ceci toutefois à l'exception du tractus gastro-intestinal où les polyphénols présents en quantité importante peuvent agir en tant que pièges de radicaux libres. Aujourd'hui au

Niveau de l'organisme, les polyphénols sont perçus comme des molécules « signal » qui pourraient stimuler les défenses anti-oxydantes d'une part via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes et d'autre part via la modulation des voies de signalisation intracellulaires contrôlant l'expression des enzymes anti-oxydantes. Contrairement aux

composés pharmacologiques qui agissent spécifiquement via un récepteur ou une voie de signalisation, les polyphénols ont des modes d'action multi-cibles. De nombreuses études in vitro montrent que les flavonoïdes pourraient affecter leurs cibles biologiques en modulant certaines activités enzymatiques, l'expression de gènes ou bien la signalisation cellulaire, en interagissant avec des récepteurs membranaires ou cellulaires, ou via des régulations épi génétiques (Fraga et Oteiza, 2010) . La diversité de ces mécanismes d'action potentiels explique le large spectre d'activités biologiques des flavonoïdes observées in vivo, parmi lesquelles des activités anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-angiogéniques, antiprolifératives ou pseudo-ostrogéniques : autant d'activités biologiques qui pourraient être potentiellement intéressantes en participant aux effets santé associés à la consommation de produits végétaux (Figure10).

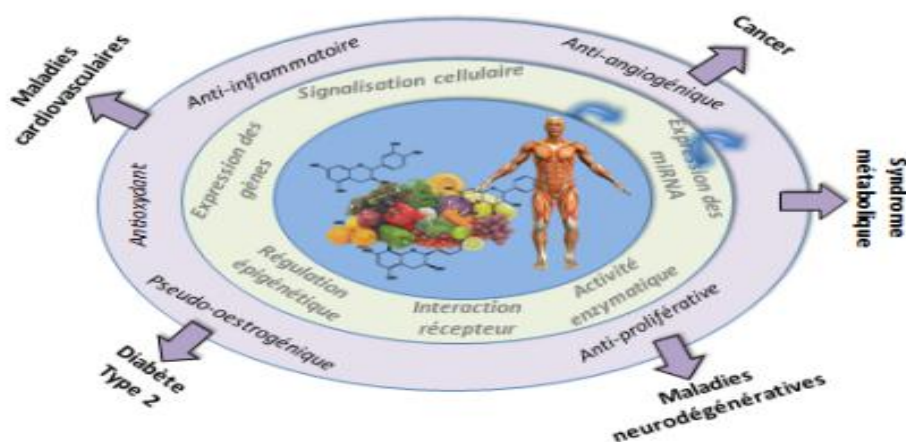


Figure10 : Modes d'action, propriétés biologiques des polyphénols et effets santé potentiels

2 \Les polyphénols : des candidats prometteurs pour la préservation de la santé cardiovasculaire chez l'homme :

Si les effets santé des polyphénols semblent concerner un large spectre de maladies chroniques, c'est bien vis à vis de la protection vasculaire que les données épidémiologiques, cliniques, précliniques et mécanistiques sont les plus convergentes et convaincantes (Rodriguez-Mateos et al., 2014). Une récente méta-analyse des études prospectives sur cohortes rapporte une association inverse entre le niveau de consommation de flavonoïdes spécifiques (flavanones, anthocyanes, flavonols, flavanols, flavones) et la mortalité ou le risque de MCV (Wang et al., 2014).

CHAPITRE 04 : polyphénols et santé humaine

Un nombre croissant d'essais cliniques contrôlés randomisés examine le rôle des flavonoïdes dans la prévention des MCV, en évaluant leur impact sur des bio marqueurs associés au risque de MCV, pression sanguine, fonction endothéliale, rigidité artérielle, cholestérol sanguin, agrégation plaquettaire (Habauzit et Morand, 2012).

En lien avec la santé cardiovasculaire, des études chez l'animal ont mis en évidence l'impact d'une supplémentation du régime en flavonoïdes pour améliorer le profil des lipides sanguins, augmenter la vasomotricité de l'endothélium, réduire la pression sanguine, ralentir le développement des lésions d'athérosclérose et réduire l'inflammation ou le stress oxydant qui régulent l'homéostasie vasculaire (Del Rio et al., 2012). Ces effets sont variables selon les classes de flavonoïdes, ce qui est à rapprocher des différences structurales entre les classes.

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Phytochimie. À l'université des frères Mentouri Constantine (Chaab Ersas).

Matériels et Méthodes

I. Matériel végétale :

Nous avons utilisé comme matériel végétal les feuilles de deux variétés de blé dur Waha et Vitron au stade trois feuilles, après 30 jours de semence des grains fournis par l'industrie technique des grandes cultures (ITGC) d'EL-Kheroub-Constantine.

Tableau11 : origine des deux variétés WAHA et VITRON (Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie, 2006).

Variété	WAHA	VITRON
Données		
Origine	Syrie	Espagne
Demandeur	ITGC	ITGC
Année d'inscription	1998	1998

1/ La semence

dans la serre de Biopol Chaab Ersas, Université des frères Mentouri Constantine, nous avons procédé à la semence de 200g des grains de blé dur de variété WAHA et 400g de la variété VITRON pesées préalablement à l'aide d'une balance analytique, dans 9 pots rectangulaires (3 pots pour la variété WAHA et 6 pots pour la variété VITRON), les pots sont étiquetés pour différencier entre les variétés.

L'arrosage est entrepris d'une façon régulière deux fois par semaine avec la surveillance

attentive de la croissance de plantes jusqu'à ce qu'elles atteignent une hauteur de 20 cm.

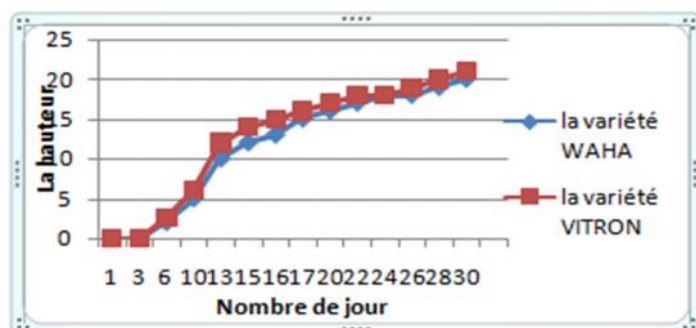


Figure11 : Courbe de croissance d'herbe de blé

2/La Récolte et le séchage :

Les feuilles ont été récoltées, qui consiste à couper toute la partie aérienne de la plante ensuite on les a laissés séchées en couches mises sur un papier journal à l'abri du soleil pendant quelques jours et au même temps on a surveillé la décroissance du taux d'humidité par la prise de leurs poids à l'aide d'une balance analytique .

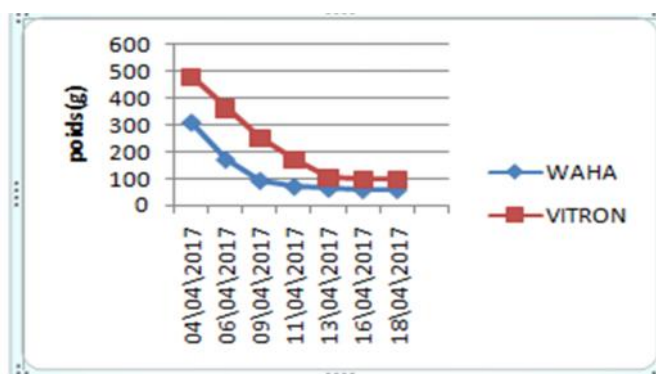


Figure12 :la courbe de l'humidité de chaque variété WAHA et VITRON

II. Extraction :

1/ Traitement préliminaire (Broyage) :

On a effectué le broyage des feuilles séchées à l'aide d'un moulin et un ciseau et encore en utilisant un mortier et pilon afin d'obtenir une poudre très fine ; puis nous avons réalisés deux pesées séparément : 50 g pour la variété WAHA et 90g pour la variété VITRON pour l'étude qualitative et 1 g pour l'étude quantitative.

2/ Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une technique d'extraction par solvant, dans notre étude l'opération a été effectuée selon deux approches :

2-1/ Macération :

2-1-1/ Principe :

La macération est une méthode classique qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules.

2-1-2/ Méthode :

Le broyat (la poudre du matériel végétal) de chaque variété 50 g WAHA et 90 g VITRON est placé dans un bécher afin de subir une macération par un volume de 500 ml (pour la variété WAHA) et 1L (pour la variété VITRON) de solvant hydroalcoolique

(Méthanol/eau, 70/30) pendant 72h à l'air libre avec renouvellement de solvant chaque 24h , l'extrait est récupéré dans un récipient, filtré à l'aide d'un papier filtre et un entonnoir puis évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif équipé d'une pompe à vide (Rotavapor BÜCHI).

2.2 Extraction au soxhlet :

2.2-1/ Principe :

Le soxhlet est une pièce de verrerie permet de faire l'extraction par solvant continue des espèces chimiques contenue dans une poudre solide. Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

L'extraction au Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle.

2-2/ Méthode :

Le broyat de 1g (la poudre végétal) de chaque variété est mis dans une cartouche propre et sec, cette dernière sera placée dans le corps en verre de l'appareil de Soxhlet, le solvant d'extraction qui est un volume de 500 ml d'éthanol, est introduit dans un ballon porté à ébullition, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensant dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer la poudre végétal au bout de 1h 30 min, le solvant condensé s'accumule dans le corps en verre jusqu'à atteindre le sommet de tube siphon qui provoque alors le retour de liquide dans le ballon accompagné des substance extraites et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles.

Le solvant continu alors de s'évaporer, alors que les substances extraites restent dans le ballon (leurs températures d'ébullition doivent être nettement supérieur

à celle du l'éthanol). L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide.

Le contenu du ballon (solvant chargé d'extrait) est récupéré puis évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant.

Le résidu sec est repris avec 8 à 10 ml de méthanol dans deux tubes à essais pour chaque variété.

3/Extraction liquide – liquide (partitions entre solvants) :

La phase limpide des Extraits de 50g et 90 g obtenus après l'évaporation et décantation pendant 24h sont soumis à plusieurs affrontements par divers solvants organiques de polarité croissante cette opération permet de séparer les composés phénoliques selon leur structure et leur degré de polymérisation, ces affrontements se font dans des ampoules à décanter.

- **Affrontement avec l'éther de pétrole** : pour éliminer tous les composés non phénoliques, comme les lipides et caroténoïdes et les pigments chlorophylliens.
- **Affrontement avec l'éther diéthylique** : qui est un solvant préférentiel des composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes.
- **Affrontement avec l'acétate d'éthyle** : pour entraîner les flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides et partiellement les di-o-glucosides.
- **Affrontement avec le méthyle-éthyle-cétone (butanone)** : pour le reste des di-o- glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides.

3-1/ Protocole :

95 ml pour la variété WAHA et 175ml pour la variété VITRON de la phase aqueuse est déversé dans une ampoule à décanter à laquelle on rajoute 100 ml pour la variété WAHA et 175ml pour la variété VTRON de premier solvant qui est l'éther de pétrole après une agitation vigoureuse accompagnée de l'ouverture de temps en temps de robinet de l'ampoule pour dégager les éventuels gaz des solvants organiques.

On replace l'ampoule sur son support et on laisse décanter, dans un délai de quelques minutes on observe la formation de deux phase non miscible : Une phase organique supérieure et une phase aqueuse inférieure.

Après une heure d'affrontement, la phase éther de pétrole est récupérée dans un bécher ou erlenmeyer alors que la phase aqueuse est remise dans l'ampoule afin de subir l'affrontement avec le deuxième solvant et ainsi de suite.

À la fin on se débarrassent de la phase éther de pétrole qui ne renferme pas des composés phénoliques par contre les autres phases récupérées d'acétate d'éthyle et de MEC sont évaporées à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à l'exception de la phase éther diéthylique qui est évaporée à l'air libre, puis on récupère le résidu de chaque phase par 8ml à 10ml de méthanol dans des tubes à essais (Merghem R ,2009)

III. Etude quantitative :

1/ Dosage des phénols totaux par colorimétrie :

Selon Singleton et Rossi, 1965 ; Parmi les méthodes fréquentes de quantification des composés phénoliques la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin ciocalteu.

1-1/ Principe de dosage :

Le réactif de Folin ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3) (Boizot N., Charpentier J.P., 2006). La coloration produite dont l'absorption maximal à 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

1.2/ Méthode :

Le dosage a été effectué selon la méthode de Zhu. Kx ,2011, une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère d'acide gallique de différentes concentrations (0-2 mg/ml), la solution mère est préparée préalablement par la dissolution de 0.2 g d'acide gallique en poudre dans 100ml d'eau distillée. Les volumes utilisés pour la préparation de la gamme d'étalonnage sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Volumes nécessaires et les concentrations correspondantes pour la préparation de la gamme étalon de l'acide gallique.

Concentration (mg/ml)	0	0.4	0.8	1.6	2
Volume prélevé de la solution mère de l'acide gallique (ml)	0	0.2	0.4	0.8	1
Volume d'eau distiller (ml)	1	0.8	0.6	0.2	0

1 ml de chaque solution de la gamme étalon a été introduit à l'aide d'une pipette dans des tubes à essais, suivi de 4 ml du réactif de Folin ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée) après 10 minutes, 5 ml de carbonates de sodium à 20 % (20 g poudre de Na_2CO_3 préparés dans 100 ml d'eau distillée à l'aide d'une fiole jaugé) ont été rajoutés puis après une incubation de 30 minutes à une température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible (UV1601, SHIMADZU).

Pour le dosage des phénols totaux contenus dans les extraits, la même procédure précédente a été suivie juste on a pris un volume de 1 ml de chaque phase (phase éther diéthylique – acétate d'éthyle-MEC- H_2O) au lieu de l'acide gallique prit à différents volumes.

2-Dosage des flavonoïdes :

Les flavonoïdes contenus dans les extraits méthanoliques sont estimés par la méthode d' AlCl_3 (Ayoola *et al*, 2008).

2.1. Protocole

- 1ml d'une solution méthanolique d' AlCl_3 (2%).
- 1ml de l'extrait.
- Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 765nm avec un spectrophotomètre UV.

La courbe d'étalonnage est effectuée par une solution mère de quercétine (0,1 $\mu\text{g/ml}$) à différentes concentrations : 100% ,80%,60%,50%,30%,10%, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

IV. Etude qualitative :

-1- La chromatographie analytique sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode simple et rapide, utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes.

-1-1- Principe de la CCM :

La séparation des constituants du dépôt se fait dans une cuve ; c'est un récipient en verre à l'aide de deux phases :

- **La phase mobile:** c'est l'éluant. Il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant.
- **Une phase stationnaire:** est un adsorbant maintenu sur une plaque de verre.

-1-2- Mode opératoire :

A / Préparation de la phase stationnaire :

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de polyamide (DC6), ces dernières sont préparées en mélangeant 11 g de poudre de polyamide dans 55 ml d'éthanol, après étalement du gel sur des plaques en verre (20 x 20) et séchage, la phase stationnaire sera prête à l'utilisation.

B / Préparation de la phase mobile

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques, Ils excitent plusieurs systèmes solvant utilisés pour la CCM de gel de polyamide.

le système choisi :

Toluène /Métyléthylcétone /méthanol / éther de pétrole: 40/ 30/ 30/ 2.5.

C/ Le dépôt :

Le dépôt se fait avec des tubes capillaires en verre à usage unique d'une façon perpendiculaire et linéairement. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans le méthanol, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte .

D / Développement des plaques :

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque.

E / Visualisation des plaque :

-à l'œil nu.

- la lampe UV (254/365) : on place les plaques souq la lampe UV à 365nm : les produits qui absorbent les UV apparaissent sous forme des taches colorées.

- réactif de Neu : les plaques de CCM sont révélées avec réactif de Neu. Les flavonoïdes apparaissent sous forme des taches fluorescente ; selon la couleur obtenue nous avons identifié le type de flavonoïdes.

-1-3 / Identification :

Il existe différentes méthodes d'identification des polyphénols notamment les flavonoïdes, parmi ces méthodes :

a / Relation R_f-structure :

Les relations existant entre le R_f (rapport frontal ou facteur de rétention) et la structure des molécules apportaient aussi des renseignements sur la structure des polyphénols séparés par CCM. Le comportement chromatographique en fonction de la composition moléculaire dans un solvant alcoolique ou aqueux permettait de mentionner les premières indications concernant la substitution de la molécule (Tableau11), La valeur de R_f est définie comme suit:

$$R_f = \frac{\text{Distance entre l'origine(le dépôt) et la tâche du produit A.}}{\text{Distance entre l'origine(le dépôt) et le front du solvant B.}}$$

Tableau 13 : Relation entre Rf et la structure (Yaou., 2001).

Structure flavonique	Rf rapport-frontal facteur de rétention
Augmentation des OH	Diminution du R f dans un solvant lipophile
Glycosylation	Rf augmente dans un solvant aqueux R f diminue dans un solvant alcoolique
Hydroxyle méthyle	R f augmente dans un solvant alcoolique
Méthylation d'un OH en C5	R f augmente dans un solvant alcoolique
Hétérosides des flavones avec 3-OH libre	R f nul dans l'eau

b- Relation structure-fluorescence :

L'examen en lumière ultraviolette est la méthode la plus utilisée pour la détermination de la structure des flavonoïdes, le tableau résume la relation qui peut exister entre la structure d'un composé et sa fluorescence sous UV.

Tableau 14 : La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (Lahouel M., 2005).

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir	Flavonols=5,6,7-triOHlibres Flavonols=5,6,8 -triOHlibres
Brun noir	3OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5-OH et 4-OH Flavones 3-OR et 5-OH ,4'OH Flavones 6 ou 8 OH Chalcones Dihydroxyflavonols Isoflavones Flavanone
Bleu claire (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans5-OH libre avec 3-OH substitué
Jaune terne Jaune Fluorescent orangé	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre
Jaune vert brillant	5-OH Libre ou 5-OH substitué
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3-OH libres Aurones Chalcones Flavanones
Jaune pâle	Dihydroxyflavonols

4/ La CCM préparative :**Objectif :**

Déterminer les types de molécules présents dans les extraits méthanoliques càd isoler et identifier les molécules contenues les phases méthanoliques séparées.

1/ Principe :

Séparer les différentes molécules présentes dans les extraits par chromatographie sur couche mince (CCM). Puis, tirer le spectre UV-visible de chaque molécule. La comparaison de ces spectres avec des témoins permettait de connaître la nature des molécules présentes.

2/ La spectrophotométrie UV-Visible :

C'est une technique qui permet de compléter les informations apportées par le comportement chromatographique et la fluorescence du produit à identifier.

Les spectres UV-Vis fournissent des informations sur la structure moléculaire, mais sont surtout utilisés pour une confirmation ou une identification grâce à des règles empiriques et à la comparaison avec des spectres de référence.

• Spectres UV-Visible des flavonoïdes :

Dans le méthanol, les flavonoïdes absorbent dans deux régions différentes du spectre UV-Vis, entre 300 et 385 nm (Bande I), et entre 250 et 280 (Bande II).

-La Bande I, correspond à l'absorption du système cinnamoyl qui fait intervenir la conjugaison du groupement CO de l'hétérocycle central avec le noyau B.

-La Bande II est associée à l'absorption du système benzoyl du noyau A, cette bande permet de connaître le nombre de substituant du noyau A (Lahouel M et *al*, 2004).

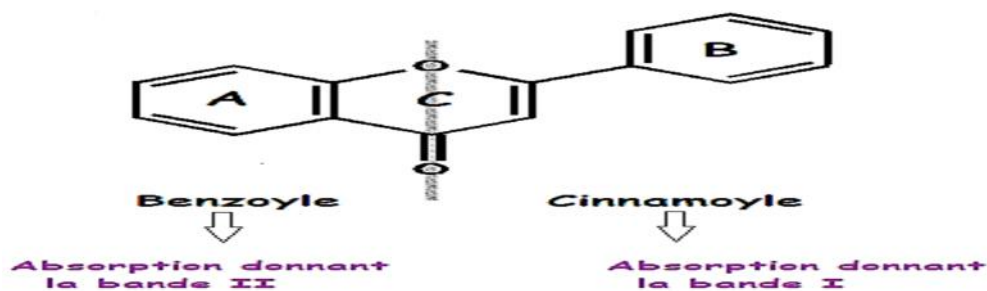


Figure 13 : Spectre d'absorption d'un flavonoïde (Khelfallah A, 2013).

5- Evaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits :

Parmi les méthodes d'évaluation de l'activité anti-radicalaire la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle).

- 1/ Principe :

Le composé chimique 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 515 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (Molyeneux P, 2004).

Dans le cas des composés phénoliques (-OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH :

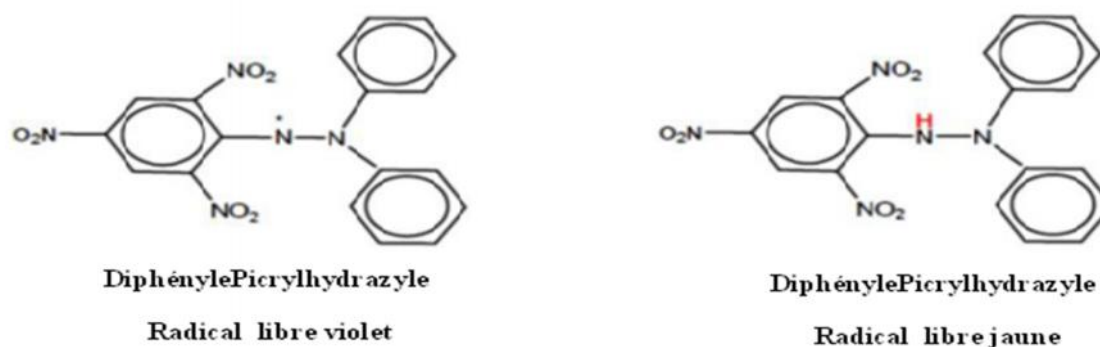
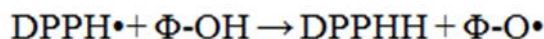


Figure 14 : Forme libre et réduit du DPPH (Parejo L, 2002).

2/ Protocole :

La solution de DPPH• à (6,25mg dans 100 ml de méthanol 90%) est préparée à l'avance (au moins 1-2 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité.

Chaque phase dissous dans la solution de 70% méthanol-30% eau distillée.

Des volumes de 0.1 ml de la solution à tester ont été mélangés avec la solution du DPPH• (3.9 ml; absorbance à 515 nm). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes. Le contenu est ensuite transféré dans un micro-tube de 4 ml et puis incubé dans la cavité du spectrophotomètre pendant le temps nécessaire pour atteindre le plateau avec ce type d'échantillon. A des intervalles de temps réguliers (10 min), les absorbances à 515 nm ont été enregistrées (contre le méthanol) sur un spectrophotomètre UV-VIS Bueco S-22.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

Résultats et interprétations

Notre travail a porté sur l'étude quantitative et qualitative des composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes par des méthodes utilisés au niveau de laboratoire de Biologie Micro-Moléculaire et Phytochimie.

I- Etude quantitative :

1- Dosage des phénols totaux :

Le test phénolique a été déterminé par le test de Folin-Ciocalteu. Les valeurs de concentration des phénols totaux sont estimés par une application numérique dans l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de la solution d'acide gallique [$y=8.983x-0.013$] avec un coefficient $R^2= 0.999$ correspond à la forme $Abs = a [AG] + b$, la teneur en composés phénoliques est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par ml (mg EAG/ml) ,

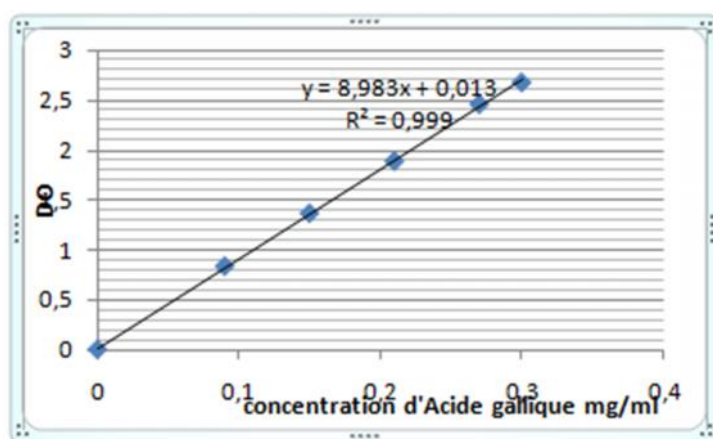


Figure15 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Teneur en phénols totaux d'extraits méthanoliques :

Tableau15 : teneur en polyphénols totaux de la variété VITRON

VITRON extrait de 90 g					
Phases	EDE	Acétate	MEC	Eau	TOTUM
Concentration en polyphénols mg /ml	5.35±0.14	5.67±0.01	5.93±0.01	6.38±0.27	7.64±0.78

Tableau16 : teneur en polyphénols totaux de la variété WAHA

WAHA extrait de 50 g					
Phases	EDE	Acétate	MEC	Eau	TOTUM
Concentration en polyphénols mg /ml	2.71±0.40	3.50±0.08	4.72±0.41	4.38±0.27	4.30±0.24

Résultats et interprétations

les concentrations des composés phénoliques pour chaque phase sont déduites de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et de la densité optique de chaque phase qui est mesurée à la longueur d'onde de 765 nm.

D'après les résultats nous ne constatons que le contenu phénolique dans les deux variétés se varie plus ou moins considérablement d'une phase à l'autre,

-D'après khalfallah 2013 et Adoum 2002, cette variation est reliée a des facteurs génétiques, structurelles ou physiologiques des céréales.

les extraits EAU et MEC de la variété Waha sont les plus riches en polyphénols où la teneur la plus élevée est constatée dans la phase MEC, elle est de l'ordre de $5,47 \pm 0.05$ mg EAG/ml par contre dans la variété Vitron la phase AcOEt présente la valeur la plus élevée avec une teneur de $8,65 \pm 0.08$ mg EAG/ml.

Le classement décroissant de contenu phénolique des phases de deux variétés est le suivant :

WAHA : MEC>EAU>TOT>EDE>Acétate

VITRON : Acétate>EAU>TOT>MEC>EDE

-2- Dosage des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont été quantifiés par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), la quercétine est le flavonoïde pris comme référence pour la courbe d'étalonnage

Les fractions représentant les flavonoïdes totaux (FT) dans les différents extraits phénoliques sont déterminées en mg équivalent de quercétine par gramme de matières sèches totales (MST).

L'évaluation quantitative des flavonoïdes (la quercétine sert de standard) montre une corrélation positive entre la variation de ce flavonoïde (0 à 25g/ml) et l'absorbance avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,979$

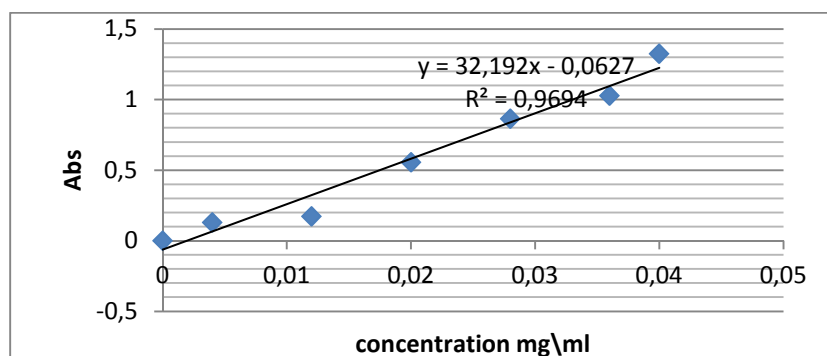


Figure16 : courbe d'étalonnage de la quercétine

Teneur en flavonoïdes d'extraits méthanolique

Tableau17 : Concentration des flavonoïdes dans les extraits méthanolique.

<i>Phases</i>	<i>EDE</i>	<i>Acetate</i>	<i>MEC</i>	<i>Eau</i>	<i>TOTUM</i>
VITRON <i>Extrait de 90g</i>	2 ;72±1.37	7,59±0.61	9,3±1.3	7,91±0.74	7,24±0.46
WAHA <i>Extrait de 50 g</i>	1 ;73±0.58	4,38±0.5	5,15±0.81	3,04±0.04	3,07±0.03

D'après les résultats, On observe que nos extraits sont riches en flavonoïdes ; la teneur en flavonoïdes varie d'un échantillon à un autre. Cette variation peut être expliquée par les différences qui existent dans la composition chimique entre les tissus des végétaux. La phase MEC des deux variétés WAHA et VITRON est la plus riches en flavonoïdes, elle est de l'ordre de 5,15± 0.05 mg EQ/ 9,3±1.3 mgEQ/ml

Le classement décroissant de contenu en Flavonoïdes des phases est le suivant :

WAHA :MEC>ACETATE>EAU>TOTUM>EDE

VITRON :MEC>EAU>ACETATE>TOTUM>EDE

3/ Teneur en phénols totaux et en Flavonoïdes dans l'extrait de 1g Soxhlet :

Tableau18 : teneur en polyphénols totaux de l'extrait de 1g Soxhlet des

Variété	Extrait de 1 g	
	WAHA	VITRON
Concentration des polyphénols totaux (mg/ml)	2.65±0.43	3.22±1 .01

Tableau 19: teneur en flavonoïdes de l'extrait de 1g Soxhlet

Variété	Extrait de 1 g	
	WAHA	VITRON
Concentration des flavonoïdes (mg/ml)	1.55±0.65	1.797±0.75

D'après les tableaux(18 ,19) on remarque que l'extrait méthanolique de la variété VITRON renferme plus de composés phénoliques et de flavonoïdes que l'extrait de la variété Waha dont la teneur estimée respectivement est 3.22 ±1.01 mg EAG/ml et 2.65 ± 0.43 mg EAG/ml de Polyphénols et 1,55 mg EAG/ml (pour la variété WAHA) 1.79 mg EAG/ml 'pour la variété VITRON) de Flavonoïdes .

Résultats et interprétations

La teneur en phénols des extraits méthanoliques de la plante dépend essentiellement de leur origine et certains facteurs intrinsèques (la génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, maturité à la récolte) et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Zeghad N, 2009).

À titre de comparaison de nos résultats du dosage avec ceux de la bibliographie on constate que la teneur en polyphénols de deux variétés de blé dur (*Triticum durum*) est supérieure par rapport à celle trouvée dans certaines plantes médicinales de la famille des labiées et rutacées comme l'espèce *Mentha pulegium* dont la valeur est de 0.33 mg EAG/ml et l'espèce *Ruta chalepensis* de 1.27 mg EAG/ml selon Ghazghazi H et al., 2013

II. Résultats de l'évaluation du pouvoir anti-oxydant par le DPPH :

1\ Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH* :

Neuf solutions du DPPH• faites dans du méthanol dans l'intervalle (0,0475-6,25 mg/ml) ont été testées. La stabilité et l'intervalle de linéarité des solutions du DPPH• ont été évalués et les résultats sont présentés sur la **Figure 17**

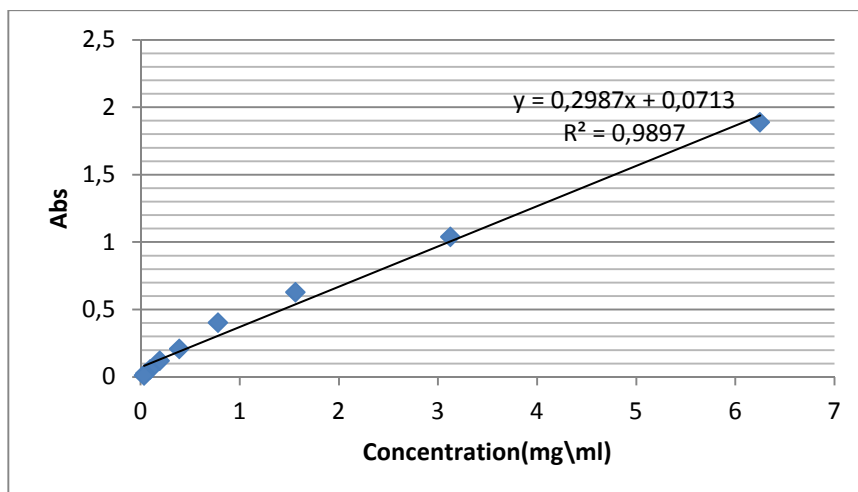


Figure17 : Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH*

Résultats et interprétations

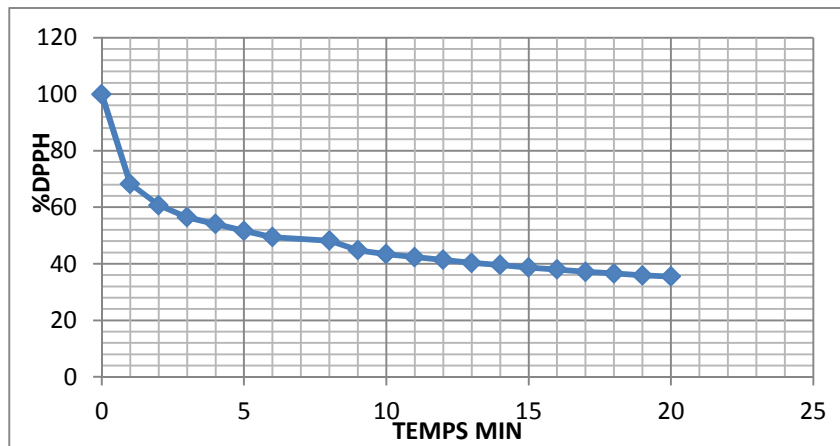


Figure18: Cinétique de réduction de [DPPH•] avec l'acide gallique

2)Activité anti-radicalaire des composés phénoliques testés :

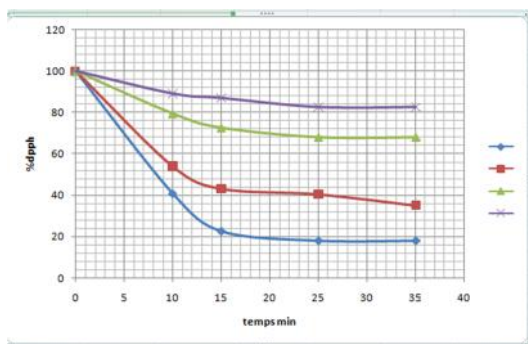
L'activité antioxydante des extraits méthanoliques des feuilles de blé , et de l'antioxydant standard (acide gallique) vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm . Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires

La cinétique de réduction du DPPH• à différentes concentrations en antioxydant testé est suivie au cours du temps jusqu'à l'obtention d'un plateau au temps final (T_{eq}).

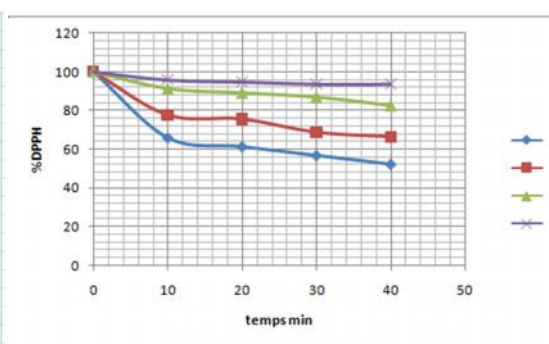
La réduction des radicaux libres est évaluée par le rapport relatif de la concentration résiduelle $[DPPH•]_{t=T_{eq}}$ restant en fin de cinétique par rapport à sa concentration initiale.

$$\%(DPPH^*)_R = \frac{[DPPH^*]_{t=T_{eq}}}{[DPPH^*]_{t=0}} \times 100$$

Les résultats présentés dans les Figures de l'activité antiradicalaire des différentes phases



Phase acétate d'éthyle WAHA



Phase éther diéthylique WAHA

Résultats et interprétations

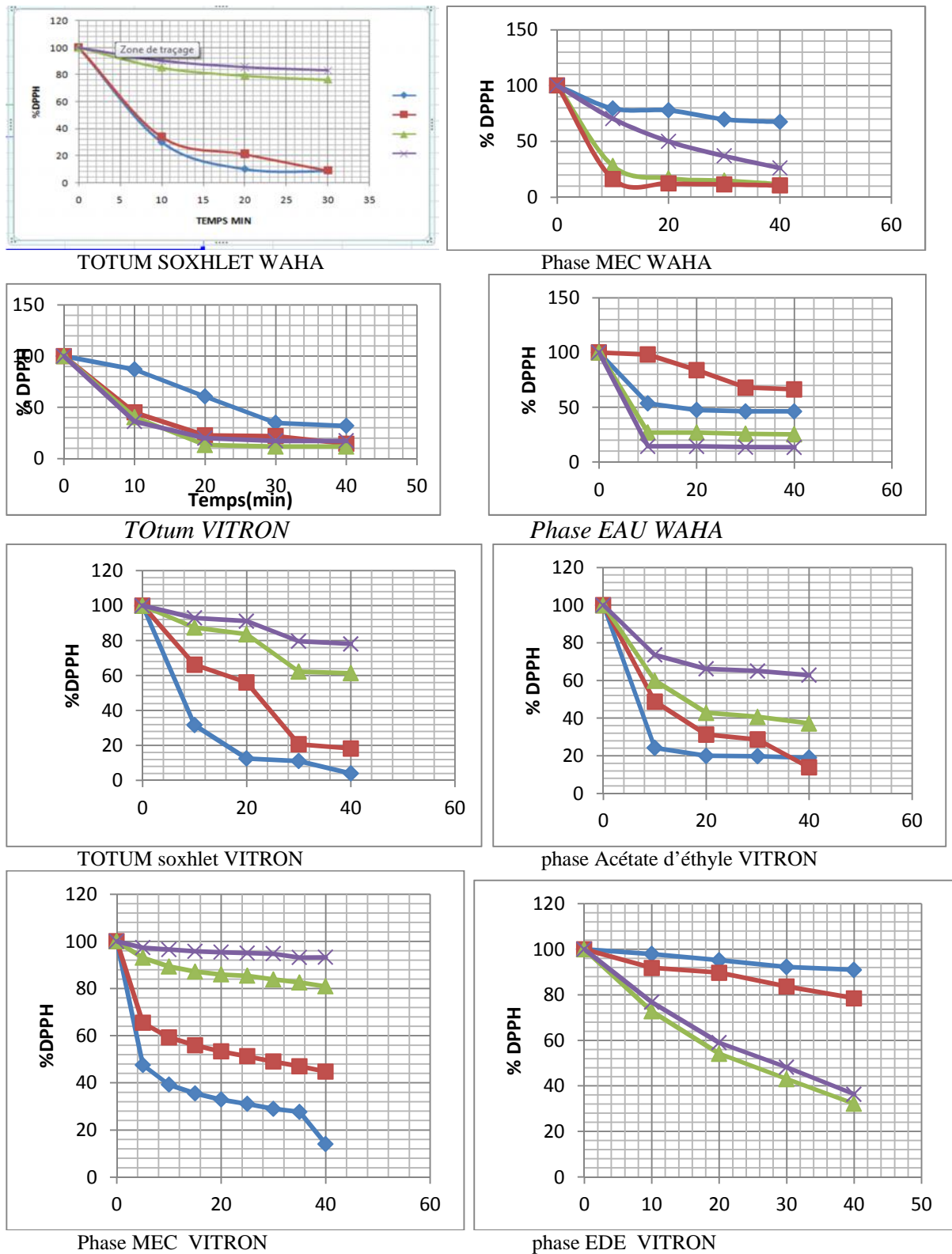


Figure 19: l'effet de la concentration sur la réduction du DPPH.

Quel que soit le type de composés étudiés. On peut conclure que l'activité antioxydante augmentera avec la teneur en composés phénoliques, jusqu'à atteindre un plateau.

Résultats et interprétations

Par contre, il y a des différences significatives dans les cinétiques de réduction dans le cas des solutions à plus faibles concentrations provoquant une réduction partielle de DPPH• .

Le tableau illustre cet effet dans le cas de la phase Totum VITRON pour la variation de la concentration (solution mère ;diluée 2fois ; 5fois ;10 fois) ces résultats sont valide pour tous les phases

Tableau 20 : . Effet des différentes concentrations sur la cinétique de réduction .

TOTUM VITRON	Solution mère	1/2	1/5	1/10
T 1/2	7.5	8	9	23

Les profils cinétiques obtenus révèlent une activité anti-radicalaire fortement dépendante des concentrations d'antioxydants . Plus le composé antioxydant est concentré, plus la baisse de l'absorbance est importante plus le temps de demi vie est élevé donc l'activité anti radicalaire est faible

3\Interprétation des phases :

L'activité antioxydante de nos extraits est estimée en se basant sur le temps de demi vie à des fins comparatives avec un antioxydants standards , l'acide gallique a montré une activitée antiradicalaire puissante avec un T1/2 <5min .

Les phases testées ont été classées selon leurs temps de demi vie (T1/2) plus le temps de demi vie est élevé plus l'activité anti radicalaire est faible.

On remarque que toutes les phases étudiées possèdent une activité antioxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH. Le temps de demi vie est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, comme elle exprime le temps nécessaire de l'antioxydant pour diminuer 50% de la concentration du radical. Plus le T1/2 est faible plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée .

la phase qui à montré le pouvoir antioxydant le plus élevé est la phase MEC de la variété VITRON elle a marqué une vitesse très rapide dans le changement de la couleur du violet vert le jaune avec un temps de demi vie très court de T1/2=4 minutes.

Donc la phase MEC de la variété VITRON renferme beaucoup de molécules ayant un pouvoir antioxydant .Cette phase occupe la première place dans la puissance du pouvoir antioxydant entre les phases testés.

En deuxième position vient la phase MEC de la variété WAHA avec un temps de demi vie très court de 5 min , montre un pouvoir antioxydant élevé par rapport aux autres phase mais reste plus bas que celui de la phase MEC de la variété VITRON .

Suivi par les phases , Acétate d'éthyle VITRON , et la phase EAU WAHA l'extrait méthanolique soxhlet WAHA qui ont le même temps de demi vie de 6 minutes

Résultats et interprétations

Les phases Totum soxhlet VITRON , Acétate d'éthyle WAHA et Totum VITRON qui ont des temps de demi vie(respectivement) de 7 , 7.5 ,et de 7,8 minutes

Les taux les plus faible du pouvoir antioxydant sont représentés par la phase EDE des deux variétés avec un temps de demi vie de 22 minutes pour la variété VITRON et de 40 minutes pour la variété WAHA .Cette phase renferme peu de composés phénoliques ayant un pouvoir antioxydant

D'après ces résultats on conclut que les feuilles de blé dur sont riches en composés phénoliques qui possèdent un pouvoir antioxydant et la phase MEC a un pouvoir capteur des radicaux libre puissant par rapport aux autres phases ce qui est confirmé par la quantification des phénols totaux (3.22 ± 1.01 mg EAG/ml pour VITRON et 2.65 ± 0.43 mg EAG/ml pour WAHA) .

L'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques issus des feuilles de blé selon la méthode de piégeage les radical libre DPPH a montré que les extraits méthanoliques possèdent une activité antioxydante modérée. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques.

Il est donc très probable qu'ils contiennent des composés qui une fois purifiés peuvent présenter une activité comparable à celle de la l'acide gallique.

III- Résultats de l'étude qualitative

-1- Diagnostic par chromatographie analytique sur couche mince :

Après les extractions et les partitions entre solvants, les phases EDE,MEC ,Ac-Et et H₂O sont évaporées à sec et repris dans 10 ml de méthanol . Une partie de ces échantillons est consacrée à l'étude spectrale aux épreuves chromatographiques , et aux teste de l'activité anti-radicalaire .

La plaque de CCM utilisé est une plaque de verre constituée de gel de polyamide DC6. La migration s'est faite dans le système solvant suivant : Tol/MEC/Me-OH/ EP (40/30/30/2.5) ; v/v/v/v) pour toutes les phases (EDE, Acetate d'éthyl, MEC).

Cette technique peut nous informer sur le contenu en polyphénols et en particulier en flavonoïdes des extraits analysés sous forme des spots flavoniques.

Résultats et interprétations

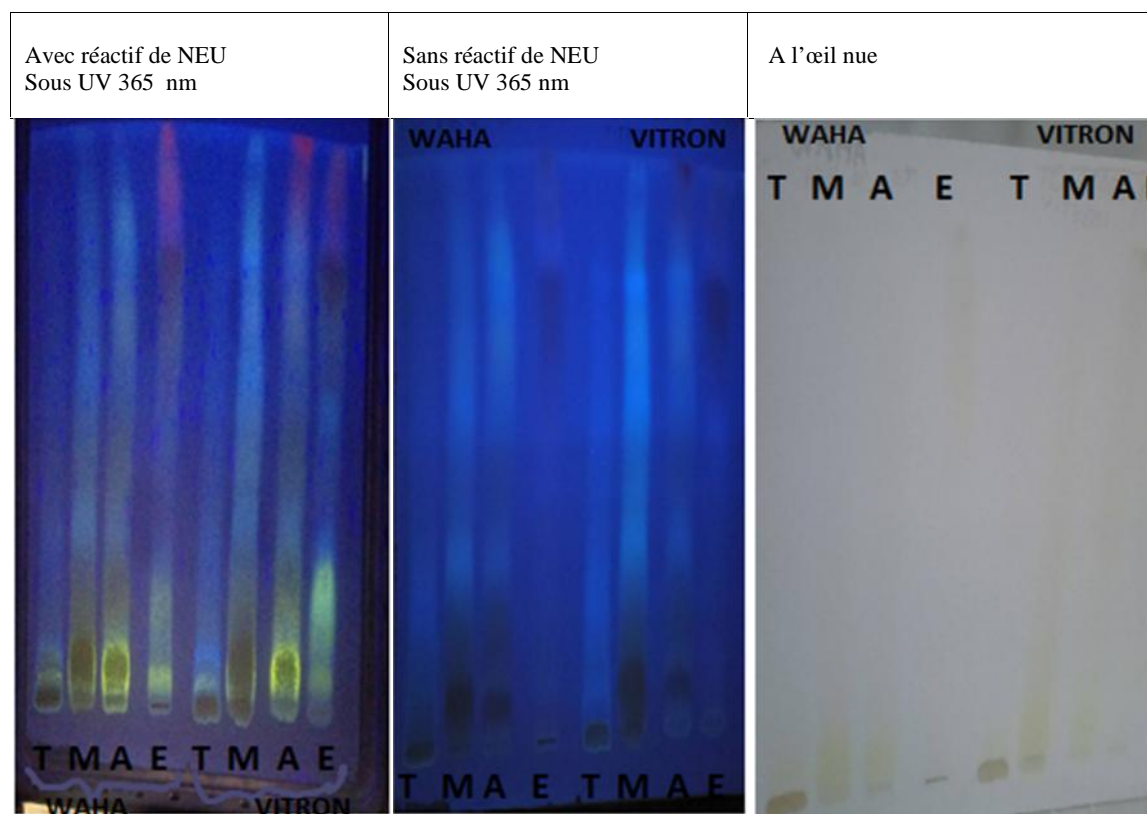


Figure20 : CCM analytique représentative des flavonoïdes des phases : Totum (T), éther diéthylique (E), acétate (A) et MEC (M) des 2 variétés de blé sur plaque de polyamide DC6 développés dans le système solvant suivant MEC/MeOH/EtOH/EP : (40/30/30/7)

La visualisation des plaques sous UV à 365nm permet d'observer les couleurs ainsi de mesurer les Rf des taches les plus majoritaires pour chaque variétés.

Malgré qu'il y a beaucoup de tâches à la phase Totum, la fluorescence n'est pas bien claire donc il y a une condensation des molécules .

On se basant sur ces résultats on remarque que la phase Acétate éthyle est la plus riche en composés phénoliques l'apparition des couleurs après pulvérisation au réactif de Neu pour les deux variétés.

Après ces observations et en s'appuyant sur les données de la bibliographie quant à la séparation des composés phénoliques par CCM et leur observation sous UV On peut éventuellement prédire les composés ou les familles de composés les plus probables qui peuvent entrer dans la composition des extraits.

L'utilisation de réactif de Neu a permis l'observation d'autres couleurs tel que le jaune verdâtre le jaune fluorescent ainsi que le marron et le virage de certain couleur tel que le virement des couleurs du marron vert au jaune fluorescent, la fluorescence et les Rf de ces tâches les plus remarquées sont résumés dans le tableau suivant :

Résultats et interprétations

les **Tableaux 2122** illustrent le Comportement chromatographique des phases Ether diéthylique (E), Acétate d'éthyle(A), MEC(M) De la variété WAHA et VITRON sur plaque de polyamide, dans le système solvant Tol/MEC/EtOH/EP (40/30/30/2,5) sous UV 365nm, et avec révélateur (Réactif de Neu)

Résultats et interprétations

Tableau 21 : Comportement chromatographique (CCM analytique) des phases Ether diéthylique (E), Acétate d'éthyle (A), MEC (M) De la variété WAHA

Variété VITRON								
Phase EDE			Phase Acétate			Phase MEC		
Rf	fluorescence	Molécules correspondants	Rf	Fluorescence	Molécules correspondants	Rf	fluorescence	Molécules correspondants
0,24	Jaune	Flavonol 3-OH libre + \-5-OH libre	0,03	Jaune fluorescent	Flavonol avec 3-OH libre Aurone, chalcone, flavanone	0,04	Jaune	Flavonol 3-OH libre + \-5-OH libre
0,08	Jaune vert	5-OH libre ou 5 substitué	0,08	Jaune verdâtre	5-OH libre ou 5-OH substitué	0,07	Jaune fluorescent	Flavonol avec 3-OH libre Aurone, chalcone, flavanone
0,20	Jaune pale	Flavonol 3-OH libre + \-3-OH	0,19	Jaune pale	Flavonol 3-OH libre + \-3-OH	0,23	Jaune Terne	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre
0,54	Blue claire	Flavone sans OH libre flavonols sans OH libre	0,33	Jaune terne	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre	0,32	Jaune pale	Flavonol 3-OH libre + \-3-OH
0,61	Rose	Anthocyanidine 3,5-di-glucoside	0,43	Marron	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre	0,43	Bleu claire	Flavone sans OH libre flavonols sans OH libre
0,72	Noir brune	3-OH absent ou 3-OH ou 3-OH substitué	0,56	Bleu	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué	0,53		
0,85	Rose	Anthocyanidine 3,5-di-glucoside						

Résultats et interprétations

Tableau 22 : Comportement chromatographique (CCM analytique) des phases Ether diéthylique (E), Acétate d'éthyle (A), MEC (M) De la variété VITRON

Variété WAHA								
Phase EDE			Phase Acétate			Phase MEC		
Rf	fluorescence	Molécules correspondants	Rf	Fluorescence	Molécules correspondants	Rf	fluorescence	Molécules correspondants
0,03	jaune	Flavonol 3OH libre +\5OH libre	0,09	Jaune fluorescent	Flavonol avec 3-OH libre Aurone, chalcone, flavanone	0,06	Jaune	Flavonol 3OH libre +\5OH libre
0,20	Jaune vert	5-OH libre ou 5 substitué	0,2	jaune verdâtre	5-OH libre ou 5 substitué	0,1	Jaune fluorescent	Flavonol avec 3-OH libre Aurone, chalcone, flavanone
0,45	violet	Flavones 5-OH 4-OH\6ou8-OH chalcone		Jaune terne	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre	0,4	Jaune terne	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre
0,67	rose	Anthocyanidine 3,5 di-glucoside	0,32	Bleu clair	Flavone sans OH libre flavonols sans OH libre	0,5	Jaune pale	Flavonol 3-OH libre +\3OH
0,82	rouge	Anthocyane 3,5 di glucoside	0,37	Jaune	Flavonol 3 OH libre +\5OH libre	0,8	Bleu clair	Flavone sans OH libre flavonols sans OH libre
			0,4	Jaune	Flavonol 3 OH libre +\5OH libre			
			0,4	Jaune pale	Flavonol 3-OH libre +\3OH			
			0,6	Bleu clair	Flavone sans OH libre flavonols sans OH libre			

Résultats et interprétations

2/ Analyse spectrale et identification des composés possibles :

L'identification suivante des molécules est approximative car les molécules n'ont pas été purifiées .

Le spectre d'absorption prendra donc une allure moyenne des molécules les plus dominantes dans les extraits d'un point de vue quantitative et non qualitative.

Phase EAU:

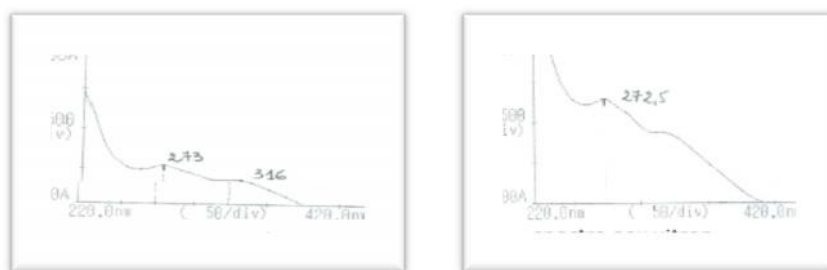
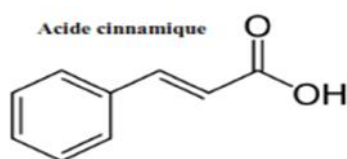


Figure21 : Spectres d'absorption de la phase Eau

Phase eau VITRON :

Ce spectre d'absorption présente un seul bande max =272.5 donc dans cette phase il y a peu de flavonoïdes et le composé dominant est un acide phénolique (ALILOU H et al.,2014), qui

correspond probablement à l'acide cinnamique qui présente une longueur d'onde maximal d'absorption de 273nm dans le méthanol.



Phase eau WAHA : Composés Non Identifiés, les composés possibles sont ceux de Diagnostic CCM.

Les spots de la phase H2O donnent des spectres caractéristiques des flavonoïdes mais dont les pics, non bien distincts, témoignent, de l'impureté des solutions flavoniques et peut être de la saleté de cette phase qui peut contenir encore des restes des lipides, boues, résines...

La phase MEC :

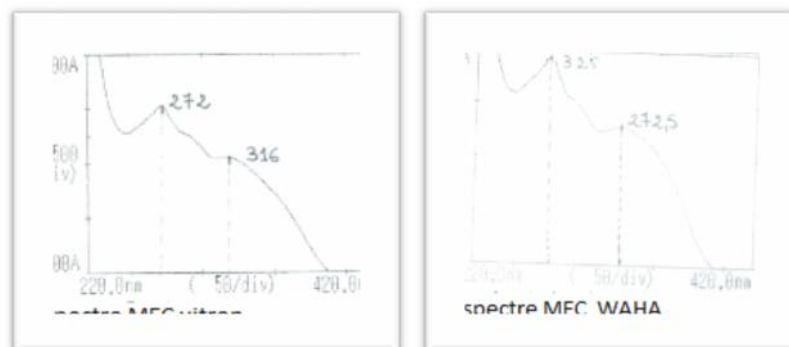


Figure 22 : Spectres d'absorption de la phase MEC

Phase MEC VITRON :

Composés Non Identifiés, les composés possibles sont ceux de diagnostic CCM.

Phase MEC WAHA : $\text{max} = 325$ trois composés montrent des propriétés spectral similaire a ce spectre : 4',7 Dihydroxyflavone 7 O-Rhamnoglucoside , 5,7Dihydroxy2'méthoxyflavone, Zapotine.

Phase Acétate d'éthyle :

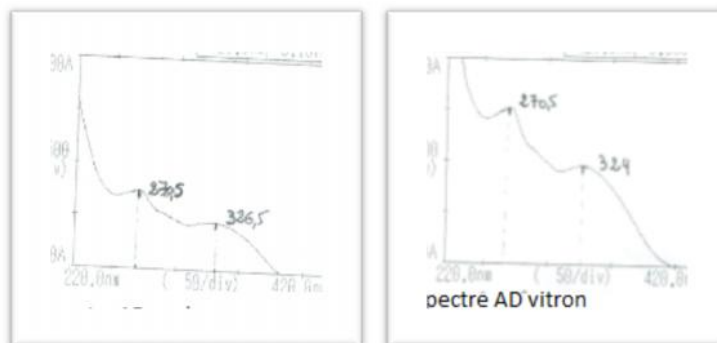
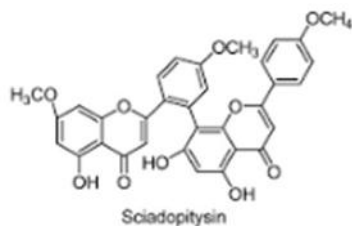


Figure 23: Spectres d'absorption de la phase Acétate d'éthyle

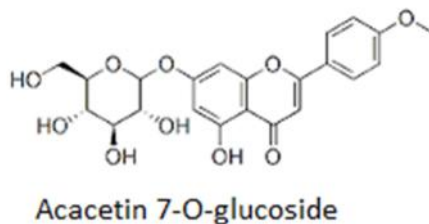
Les solutions méthanoliques de la phase Acétate d'éthyle des deux variétés sont révélées d'être des solutions flavoniques donnant deux pics caractéristiques dans le domaine [220- 400] nm. Avec la possibilité d'être des Isoflavones.

Résultats et interprétations

La variété Waha : $\lambda_{\max} = 326.5$ correspond à Sciadopitysin



La variété Vitron : $\lambda_{\max} = 324$ correspond à Acacétin 7-O-glucoside



Phase éther diéthylique :

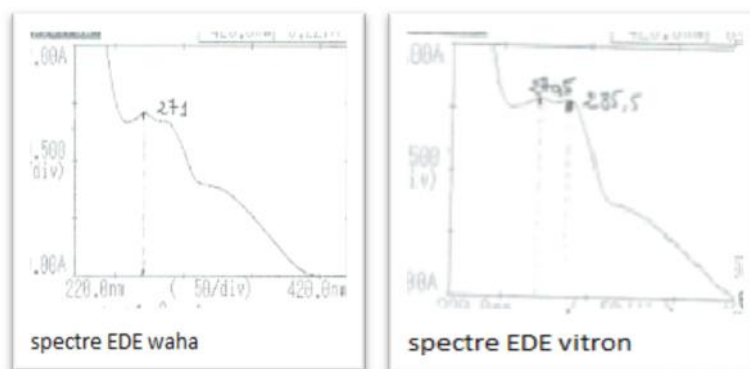


Figure24 : Spectres d'absorption de la phase Ether diéthylique

La variété Waha :

Le spectre représente un seul pic $\lambda_{\max} = 271$ donc dans cette phase il y a peu de flavonoïdes et le composé dominant est un acide phénolique (ALILOU H et al., 2014) qui correspond probablement à l'acide cinnamique qui présente une longueur d'onde maximal d'absorption de 273nm dans le méthanol.

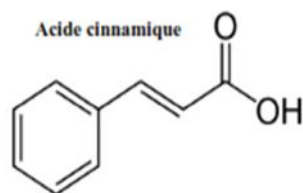


Figure25: structure de la molécule identifiée dans la phase ether dihythlique, WAHA

la variété Vitron :

Composés Non Identifiés, les composés possibles sont ceux de diagnostic CCM.

Dans l'intervalle UV-visible ,les solution méthanolique de la phase **éther diéthylique** dans les deux variétés donnent des pics situés entre 270-290 nm .

Ceci nous permet de déduire que cette phase ne contient pas de flavonoïdes et de supposer que peut être ces pics représentent des phénols simples et des acides phénoliques.

Les solutions méthanolique de la phase **Acétate d'éthyle** donnant deux pics plus distincts (donc plus pures) qui sont fortement proches à ce de la phase MEC

Les deux premier pics sont révélés dans l'intervalle 270-275nm qui caractérise un phénol simple ou un acide phénolique , les deux autres pics se situent entre 315-327nm cet intervalle est caractéristique aux flavonoïdes .

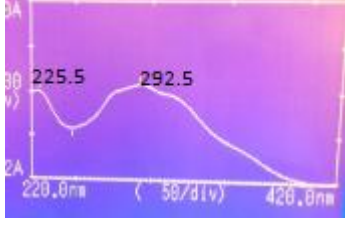
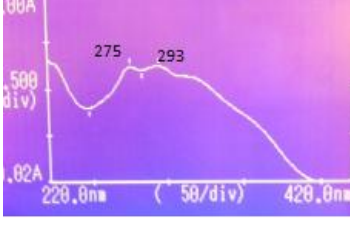



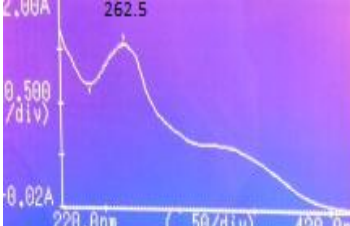
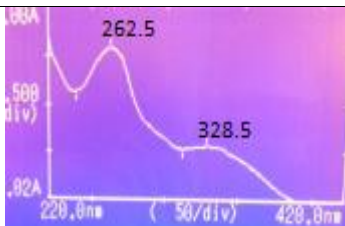
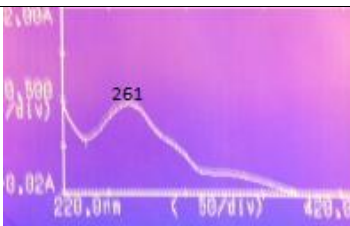
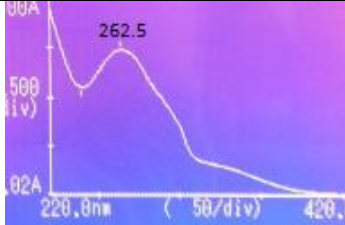
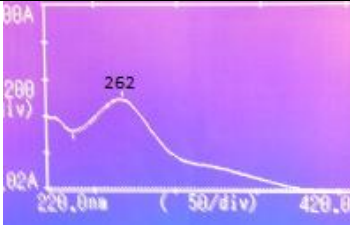
3\ CCM preparative:

Séparation des flavonoids:

Après La séparation et la filtration des spots on a mesuré leurs spectres d'absorptions Les spectres de la phase MEC illustrés dans le tableaux 23.

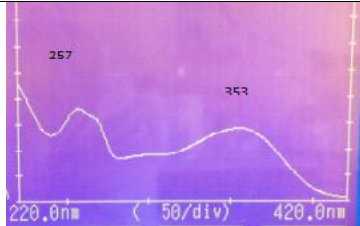
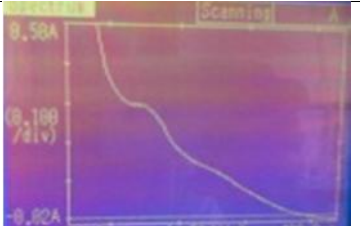
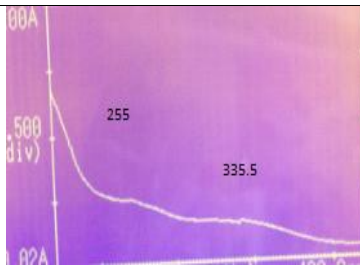
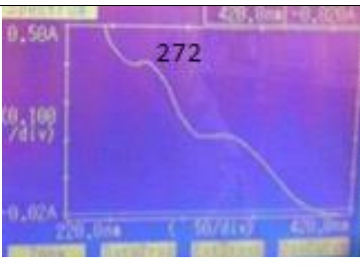
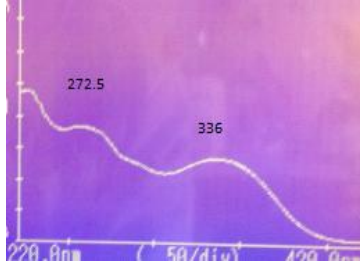

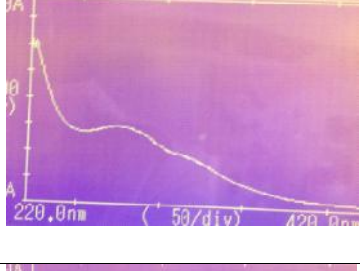

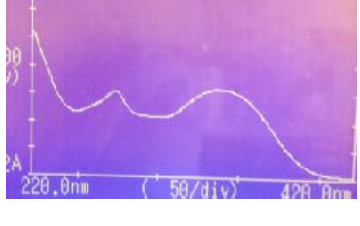

Résultats et interprétations

Tableau23 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase MEC des deux variétés WAHA et VITRON

PHASE MEC			
Variété WAHA		Variété VITRON	
Composés possibles	Spectre d'absorbance	Composés possibles	Spectre d'absorbance
Spot N°1 marron Rf =0.03 Flavone et dihydroxyflavone		Spot N°1 Rf=0.08 marron Flavone et dihydroxyflavone	
Spot N°2 Jaune terne Rf=0.13 Flavones et flavonols		Spot N°2 Rf =0.22 BLEU FLAVONES et falavonols	
SpotN°3 Bleu		SpotN°3 Rf=0.35 Isoflavone Jaune terne	
SpotN°4 Jaune pâle		SpotN°4 Rf=0.58 Isoflavone Jaune pâle	
SpotN°5 violet Isoflavone		SpotN°5 Non identifié	

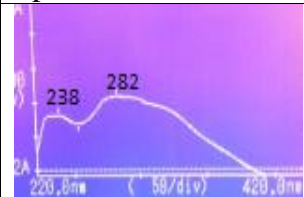
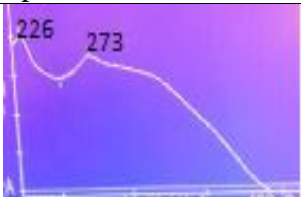

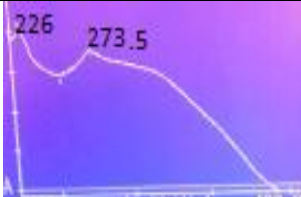


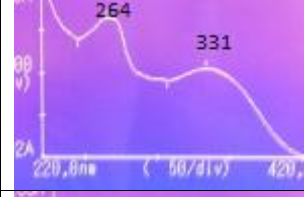



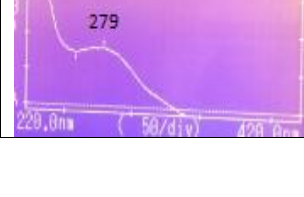
Résultats et interprétations

Tableau24 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase Eau des deux variété WAHA et VITRON

PHASE EAU			
Variété WAHA		Variété VITRON	
Num de spot	Spectre d'absorbance	Num de spot	Spectre d'absorbance
SpotN°1 Rf=0.03 Violet		SpotN°1 Rf=0.03 Bleu fluorescent	
SpotN°2 Rf=0.13 Jaune pâle Quatre composés sont possibles		SpotN°2 Rf= 0.13 Jaune pâle	
SpotN°3 Rf=0.29 Jaune		SpotN°3 Rf= 0.29 Marron claire	
SpotN°4 Rf=0.56 Marron		SpotN°4 Rf= 0.56 Marron brun	
SpotN°5 Rf= 0.82 Jaune fluorescent		SpotN°5 Rf= 0.82 Jaune fluorescent	

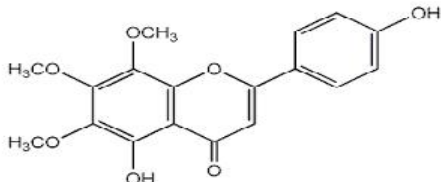
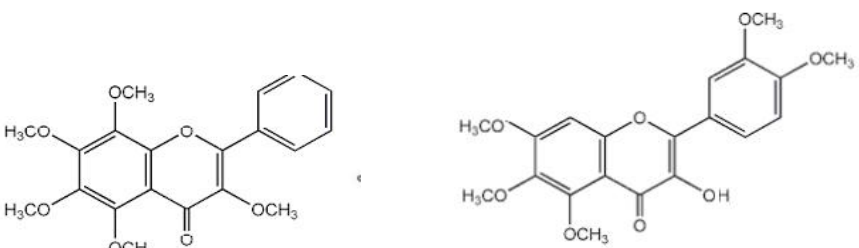
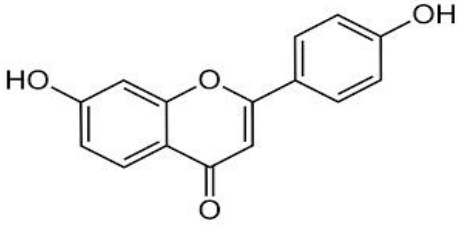
Résultats et interprétations

Tableau25 : les spectres d'absorptions des molécules identifiées dans la phase Acétate des deux variété WAHA et VITRON Selon la littérature (Marby et al., 1970),

PHASE Acétate d'éthyle			
Variété WAHA		Variété VITRON	
Num de spot	Spectre d'absorbance	Num de spot	Spectre d'absorbance
SpotN°1 marron		SpotN°1 jaune	
SpotN°2 Jaune terne		SpotN°2 Jaune pâle	
SpotN°3 Jaune		SpotN°3 Bleu fluorescent	
SpotN°4 Jaune pâle		SpotN°4 Jaune fluorescent	
SpotN°5 Jaune fluorescent			
SpotN°6 Sh :310.330 violet Isoflavone			
Spot N°7 Hétérogène Non identifié			

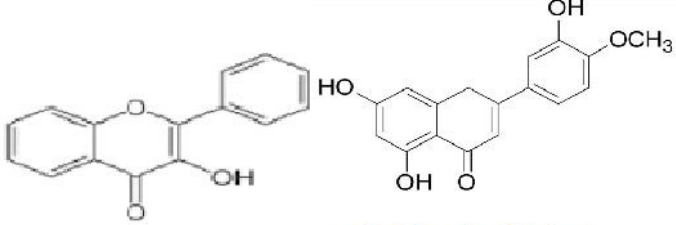
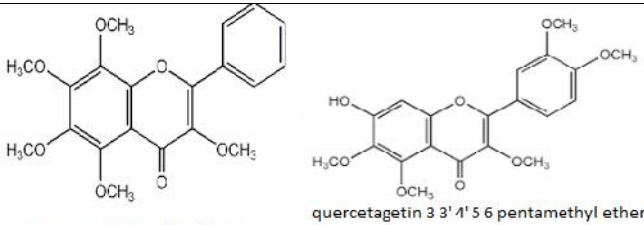
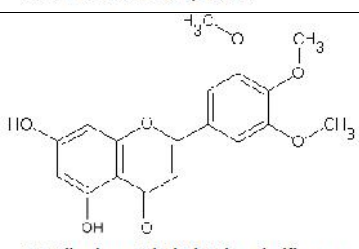
Résultats et interprétations

Tableau26 : structures des molécules identifiées dans la phase MEC WAHA

Variété WAHA phase MEC	
Structures des molécules possibles	Propriétés
 <p>4',5-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone</p>	Bande 1=332 Bande 2=272,5 4',5-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone FLAVONE
 <p>3,5,6,7,8-pentamethoxyflavone</p> <p>quercetagenin 3',4',5,6,7-pentamethyl-ether</p>	Bande 1=338 Bande 2= 272 FLAVONE et FLAVONOL
 <p>4',7-Dihydroxyflavone</p>	Bande 1=328 Bande 2=262,5 FLAVONE
Deoxyflavone (Bayin)	

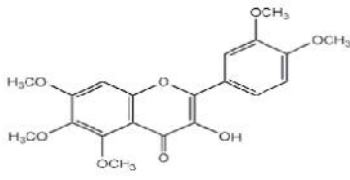
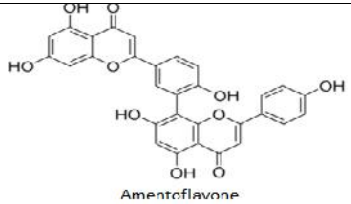
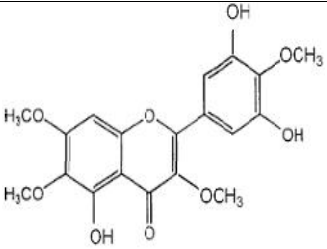
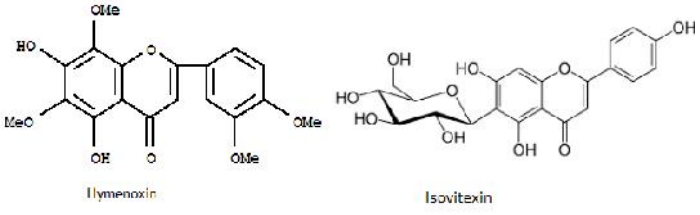
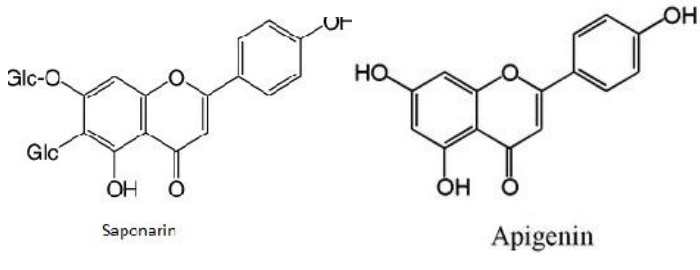
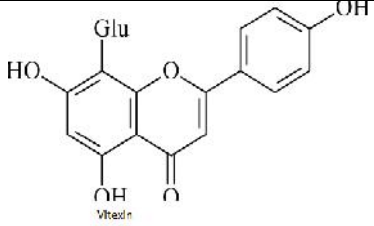
Résultats et interprétations

Tableau27 : structures des molécules identifiées dans la phase Acétate WAHA,

Phase Acétate WAHA	
Structures	Propriétés
 <p>3-Hydroxyflavone FLAVONOL</p> <p>5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone FLAVONE</p>	<p>Bande 1=344 Bande 2=271</p> <p>FLAVONE et FLAVONOL</p>
 <p>3 5 6 7 8 Pentamethoxyflavone</p> <p>quercetagenin 3 3' 4' 5 6 pentamethyl ether</p>	<p>Bande 1=338 Bande 2=272</p> <p>FLAVONE</p>
 <p>5,7 Dihydroxy 3',4',5', Trimethylflavone</p>	<p>Bande 1=331 Bande 2=264</p> <p>FLAVONE</p>

Résultats et interprétations

Tableau28: structures des molécules identifiées dans la phase Eau WAHA,

PHASE EAU WAHA	
STRUCTURE	Propriétés
 <p>quercetagein 3',4',5,6,7, pentamethyl-ether</p> <p>FLAVONOI.</p>	<p>Bande 1=354</p> <p>Hydroxyflavonol méthylé</p>
 <p>Amentoflavone</p> <p>BiApigénine</p>	<p>Bande 1=335</p> <p>Bande 2=255</p> <p>FLAVONE et FLAVONOLS</p> <p>Rf =0.13</p> <p>Spot :jaune pâle</p> <p>FLAVONES</p>
 <p>3',5,5' trihydroxy 3,4',6,7 :etra methoxyflavone</p>	<p>ce résultat parait logique du fait que les molécule sont riches en groupement hydroxyle ce qui explique le comportement des constituants de cette phase au cour de la CCM qui est représenté par un Rf =0.13</p>
 <p>Ilymenoxin</p> <p>Isovitexin</p>	<p>Bande 1=336</p> <p>Bande 2=272</p> <p>FLAVONES</p>
 <p>Saponaritin</p> <p>Apigenin</p>	
 <p>Vitexin</p>	

Résultats et interprétations

Tableau 29: structures des molécules identifiées dans la phase MEC ,VITRON

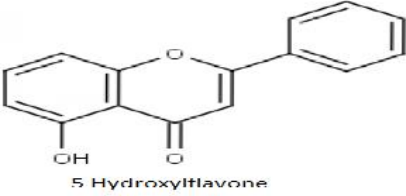
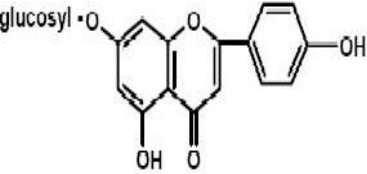
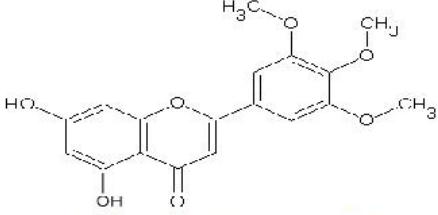
PHASE MEC VITRON	
Structure	Propriété
 <p>5 Hydroxyflavone</p>	Bande1=333 Bande 2=272 FLAVONES
 <p>Apigenin 7-O-glucoside.</p>	

Tableau30 : structures des molécules identifiées dans la phase Acétate ,VITRON

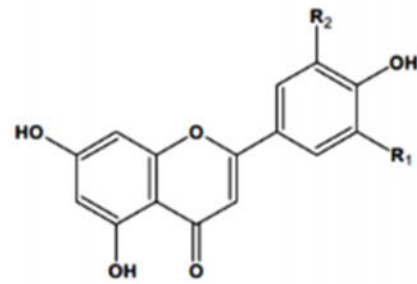
PHASE ACETATE VITRON	
Structure	Propriété
3.5.6.7.8.Pentamethoxyflavne Quercetagetin3,3'4',5,6Pentamethylether	Bande 1=338 Bande 2 avec un $R_f = 0.18$ le même molécules sont identifiées dans la phase MEC WAHA avec un $R_f = 0.2$, les deux variétés contiennent les même molécules dans ce spot
 <p>5,7 Dihydroxy 3',4',5', Trimethylflavone</p>	Bande 1=331 Cette molécule est identifiée dans la phase Acétate WAHA

Résultats et interprétations

Tableau 31: les molécules identifiées dans la phase Eau,VITRON

PHASE EAU VITRON	
Molécules	Propriété
4',7Dihydroxyflavone	Bande1=328 ces molécules sont identifiées dans la phase MEC WAHA
5-Deoxyflavone (Bayin)	
5 Hydroxyflavone 3' 4' Dimethoxyflavone Apigenin 7-O-Glucoside	Bande 1=333 ces molécules sont identifiées dans la phase MEC VITRON

En fin, selon cette étude, la plupart des molécules identifiées appartiennent à la classe des flavones, ou des dérivés de 5-Hydroxyflavone, l'utilisation de λ_{max} de la bande I nous a permis de les différencier des Flavonols (Mabry et al., 1970). Ces molécules pouvaient être présentes sous différentes formes (aglycones ou avec substitutions), la glycosylation se fait généralement pour ces molécules au niveau du cycle A benzyle selon Cavaliere et al., 2005, c'est possible que le type de glycosylation justifie la légère différence entre λ_{max} de la bande II mesuré et celle correspondante dans la littérature (Mabry et al., 1970). Les Flavonol 3OH substitués (méthyles) ont aussi été identifiés. Dans l'étude menée par Cavaliere et al., 2005 sur les tiges et les extraits des feuilles de *Triticum durum cultivar (cv) Ofanto*, selon une approche différente en utilisant HPLC avec spectrométrie de masse, Les flavonoïdes aglycones libres n'ont pas été observés alors que les monoglycosides, diglycosides, triglycosides et une tetraglycoside ont été détectés, la plupart entre eux sont des C-conjugués. Tous les conjugués glycosidiques identifiés étaient des dérivés de seulement de quatre flavones : apigénine, lutéoline, tricine et chrysoeriol. Seules de petites traces d'autres flavonoïdes et les Isoflavones ont été détectés, ce qui est en corrélation avec notre interprétation des résultats et correspond à quelques classes des flavonoïdes identifiées par notre étude.



Aglycone	R ₁	R ₂
Apigenin	H	H
Luteolin	OH	H
Chrysoeriol	OCH ₃	H
Tricin	OCH ₃	OCH ₃

Figure26 : Structure des quatre flavones détectés dans les tiges et les feuilles de

Triticum

durum cultivar (cv) Ofanto (Cavaliere et al.,2005)

Conclusion générale :

Cette étude sert à étudier la présence le type , et la teneur en composés phénoliques et leurs pouvoir antioxydant au niveau des feuilles de blé dur pour deux variétés WAHA et VITRON cultivé dans la serre de bio pôle à Chaaba arrasas.

Des études phytochimiques basés sur l'extraction , le fractionnement , la chromatographie sur couche mince et la spectrométrie de ces composés nous permettons une approche de la structure moléculaire.

D'après les résultats obtenus de l'analyse quantitative de la composition phénolique des des deux variétés par le test colorimétrique de Folin Ciocalteu, confirment que ces espèces sont riches en polyphénols et montrent que la variété VITRON est plus riches en polyphénols que la variété WAHA dont la teneur estimé respectivement est.(3.221 ± 1.018 mg EAG/ml) ($2,634 \pm 0,432$ mg EAG/ml).

Ces résultats indiquent que les teneurs en composés phénoliques des extraits des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) sont plus important que celles de certain extrait de plantes médicinales comme celles de l'espèce *Mentha pulegium* et l'espèce *Ruta chalepensis* de la famille des rutacées.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits analysés a été réalisée par la détermination de leur pouvoir de piégeage du radical du DPPH° en estimant leurs activité antioxydante par l'utilisation d'une réaction antiradicalaire témoin « l'acide gallique » qu'il a montré une activité antiradicalaire puissante avec un $T_{1/2} < 4$ min. la phase qui à montré le pouvoir antioxydant le plus élevé est la phase MEC des deux variétés 4min pour la variété VITRON et 5min pour la variété WAHA suivant ce paramètre, l'activité antioxydante de nos extraits ont été mise en évidence et l'orientation de l'utilisation des jeunes plantes de ces deux variétés de blé dur comme étant des plantes médicinales est proposé.

L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM analytique) ont permit tout d'abord de visualiser des empreintes flavoniques des différentes phases préparées par l'affrontement. La réaction positive de réactif de Neu avec les molécules confirme que les feuilles de blé sont riches en Flavonoïdes ; de type Flavonone, Flavone et Flavonols alors que ces classes sont les principaux flavonoïdes des plantes médicinales (Khelfeallah, 2013).

L'analyse spectrale des molécules isolées de la (CCM préparative) nous a permit d'identifier des flavonones, flavones tels que Apigénine ,5,hydroxyflavone, des flavone méthylés tels que : 3,5,6,7,8 pentamethoxyflavone ,3',5,5',trihydroxy 3,4',6,7 tetra methoxyflavone, des flavones glycosylés :Vitexin Isovitexin , Saponarine .
Des flavonols : Quercetagine 3',4', 5, 6,7 pentamethyl ether .

Références bibliographiques:

- Autran, J.C.1973.**L'identification de variétés de blé. Bulletin des anciens élèves l'école française demeurerie. 256:163. In: Variabilités des Hordeines d'une collection mondiale d'orge. Bechkri, S.S., 2004. Mémoire de Magistère. Univ Mentouri Constantine.
- Baribeau, H; Lemieux, S. 2005.**Quelques mots sur le blé. Blé-passeportsanté_net. htm.
- Benbelkacem, A.1991.**Culture du triticaire et les travaux de recherche menés en Algérie. *Revue de céréaliculture*, 25 Ed ITGC, Algérie Pp 32.
- Benbelkacem, A. 2007.** Les triticales : cultures, performances et différentes possibilités d'utilisation en Algérie. Journée technique sur la culture du triticaire en zones semi arides et son utilisation par les animaux domestiques: Oum Elbouagui-Elkhroub. 17-18 Juin 2007.
- Bourdillat.B, Delautier.D, Labat.C, Benveniste.J, Potier.P, Brink.C, LAB. Yves Rocher, PARIS, Fr.** Mechanism of action of hispidulin, a natural flavone, on human platelets. *Prog. Clin. Biolo. Res.* 1988 280: 211-14.
- Brown J. E. et coll., 1998.** *Biochem.J.* ,330, 1173-1178. ROS
- Bruneton.J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1999, 1120p
- Chaudhry.P.S, Cabrera.J, Juliani .H.R, Varma. S.D.** Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol.* 1983 32: 1995.
- C. MOULE., 1971.** PHYTOTECNIQUE SPÉCIALE Tome II CÉRÉALES.
- Cyril Auger, Valérie B.Schini-Kerth(2014)** Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de nutrition et de diététique*, No. of Pages 13.
- Commenges. D, Scotet.V, Renaud.S, Jacqmin-gadda.H, Barberger-gateau. P, Dartigues.J.F.** Intake of flavonoids and risk of dementia. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U330, Bordeaux, Fr. *Eur. J. Epidemiol.* 2000 16(4): 357-363
- CrozierA, an Indu B. Jaganathb and MichaelN. Clifford (2009)** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports* 26(8):965-1096.
- Dangles O, Dufour C., 2006.** Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, Eds O. Andersen and K. Markham, CRC Press, Boca Raton. Chapter 9, p 443-469.
- Dangles O., Dufour C., 2008.** Recent advances in Polyphenol Research. Chapter 3, 67-87.

Da Silva .E.J.A, Oliveira. A.B, Lapav .A .J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994 46(2): 118-22.

DelporteC, Backhouse N, Erazo S (2005) Analgesic-anti-inflammatory properties of *Proustiapyrifolia*. *JEthnopharmacol* 99 (1): 119-124

De whalley.C.V, Rankin.S.M, Hoult.J.R.S, Jessup.W, Leake.D.S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem.Pharmacol.* 1990 39(11): 1743-50.

Di carlo.G, Mascolo.N, Izzo.A.A, Capasso.F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review.Life Sci.* 1999 65 : 337-53.

Ghedirak (2005) Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle pro-phy lactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.*, 3 (4): 162-169.

Grote wold E. The science of flavonoids .*Springer*(2005).

Erben-russ.M, Bors.W, Saran.M. Reactions of linoleic acid peroxy Radicals with phenolic antioxidants: a pulse Radiolysis study. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1987 52(3): 393-412.

Errol, NTSari, F & Velioglu Y .S .(2010) .Polyphenols, Alkaloids and antioxidant activity of different grades Turk itch black tea *GIDA* 35(3),161-168

Favier A, (2003) "Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique." *L'Actualité chimique*; 108-117.

Fesen. M.R, Pommier. Y, Leteurtre.F, Hiroguchi. S, Yung.J, Kohn.K.W. Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds .*Biochem .Pharmacol.* 1994 48(3): 595-608.

Frenkel.K, Chrzan.K. Hydrogen peroxide formation and DNA base modification by tumor promoter-activated polymorph mono clear leukocytes. *Carcinogenesis* 1987 8(3): 455-60.

Fuhrman.B, Lavy.A, Aviram.M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin.Nutr.* 1995 61(3): 549-54.

Galvez.J, De la cruz.J.P, Zarzuelo .A, Sanchez de la cuesta.F. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differs from its influence on the glutathione-related enzymes. *Pharmacology* 1995 51(2): 127-33

Halliwell.B, Cross.C. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ. Health Persp.* 1994 102 (Suppl. 10): 5-12.

Halliwell B.1994. *Nutr.Rev.* , 52 , 253 - 265.

Hertog.M.G, Feskens.E.J, Hollman.P.C, Katan.M.B, Kromhout.D.D. Anti-oxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study .Lancet. 1993 342: 1007-1011.

Hider R. C et coll., 2001. Method.in Enzymol, 335, 190-203 ROS

Imai.K, Nakachi.K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. BMJ 1995 310(6981): 693-6.

Jovanovic S.V. et coll., 1994. J. Am. Chem. Soc., 116, 4846-4851. ROS

Kahina Bouhadjra,(2011) "Etude de l'effet des Antioxydants naturels et de Synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive Vierge. "Thèse de magister , Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou , p 42

Kessler. M, Ubeau. G, Jung. L.Anti-and pro-oxidant activity of routine and quercetin derivatives. J. Pharm. Pharmacol., 2002 55: 1-11.

Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., Fillastre J.P., 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclo phosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. Pathologie expérimentale 52 : 314-322.

Lahouel M., 2005. Interaction Flavonoïdes-Mitochondrie et rôle de la Propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de Doctorat d'Etat de L'Université de Constantine.

Laughton. M.J, Halliwell.B, Evans.P. J, Hoult. J, Robin.S. Antioxydant and Pro-oxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Biochem. Pharmacol. 1989 38(17): 2859-2865.

Limasset. B, Le doucen. C, Dore.J.CH, Ojasoo. T, Damon. M, De paulet. A. C. Effects of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. Biochem.Pharmacol. 1993 46(7): 1257-71.

Mahmood.N, Pizza.C, Aquino.R, De tommasi.N, Piacente .S, Colman.S, Burke.A, Hay.A.J.Inhibition of HIV infection by flavanoids. Antivir. Res. 1993 46(7): 1257-71.

. Majhenic L, kerges M.S., et Knez Z., Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemist. 104 (2007) 1258–1268.

Mazza G; GaoL ., 2005. Blue and purple grains, P 313-350. In: Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. Dyke I.3Le seigle: Secale cereal Les L & Rooney W L. (2007).Texas A&M University, CFW-52-3-0105

Merghem R., 2009. Elément de biochimie végétal. Ed. Bahaeddine

Middleton.E.J, Drzewiecki.G .Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol.* 1984 33(21): 3333-8.

Middleton.E.J. Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 1996 34 (5): 344-348.

Mila.I, Scalbert.A. Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, 1994 381(2): 749-755.

Mookerjee. B.K, Lee.T.P, Logue.G.P, Lippes.H.A, Middleton.E.The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses.*Prog.Clin.Biolo.Res.* 1986 213: 511-20.

Morris C.J. et coll., 1995. *Int. J. Biochem. CellBiol.* ,27,109-122. ROS

Mucsi.I, Pragai.B.M. Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia* 1985 41(7):930-1.

Namgoong. S.Y, Son. K.H, Chang.H.W, Kang. S.S, Kim.H.P .Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 1994 54(5): 313-20.

Negre-salvayre. A, Salvayre. R.Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines. *Free Rad. Biol.& Med.* 1992 12(2): 101-6.

Novelli G. P, (1997) "Role of free radicals in septic shock. J." *Physiol. Pharmacol*, 48: 517-527.

BENBRINIS, S 2011/2012 Evaluation des activités antioxydant et antibactérienne des extraits de Sant olinachamaecy parissus MAGISTER en BIOCHIMIE

Read, M. A. Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents *Vascular. Am. J.Pathol.* 1995 147(2): 235-7.

Ohemeng.K.A, Schwender.C.F, Fu.K.P, Barrett.J.F. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones .*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993 3(2): 225-30.

Ong.K.C, Khoo.H.E.Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats.*Life Sci.* 2000 67: 1695-1705..

Ono.K, Nakane.H, Fukushima.M, Chermann .J.C, Barre-sinoussi.F.Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* 1990 190(3): 469-76.

Ono.K, Nakane. H. Mechanism of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* 1990 108(4): 609-13.

Roengsumran.S, Petsom.A, Ngamrojanavanich.N, Rugsilp.T, Sittiwicheanwong.P, Sato.M, Tsuchiya.H, Takase.I, Kureshiro.H, Tanigaki.S, Iinuma.M. Antibacterial activity

of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytother. Res.* 1995 9(7): 509-12.

Schmitt.A, Salvayre.R, Delchambre.J, Negre-salvayre. A. Prevention by a tocopherol and rutin of glutathione and ATP depletion induced by oxidized LDL in cultured endothelial cells. *Brit. J. Pharmacol.* 1995 116(3): 1985-90.

Seyed Hossein Zendebed., Mohammad Javad Mehran., SudhakarMalla., 2014.

FLAVONOIDS AND PHENOLIC CONTENT IN WHEAT GRASS PLANT (*TRITICUM AESTIVUM*) *Asian journal of pharmaceutical and clinical research* Vol 7, Issue 4.

Spedding.G, Ratty.A, Middleton.E.J. Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antivir. Res.* 1989 12(2): 99-110.

Stadtman. Earl.R. Protein oxidation and aging. *Science* 1992 257(5074): 1220-4.

SUBIRADE I; FERNANDEZ Y; PERIQUET A; MITJAVILA S. Catechin protection of 3T3 Swiss fibroblasts in culture under oxidative stress. *Biol. trace elem. Res.* 47(1-3): 313-9, 1995.

Van acker, S; A. B. E.; Tromp, M; N. J. L.; Haenen, G; R. M. M.; Van der vijgh, W; J. F.; Bast, A; Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 1995 214(3): 755-9.

Vrijssen.R.E.L, Van hoof.L.M, Vlietinck.A.J, Vandenberghe.D.A, Boeye.A. The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivir. Res.* 1987 7(1): 35-42.

Ward.J. Free Radicals, antioxidants and preventive geriatrics. *Austr. J. Physic.* 1994 23(7): 1297-301.

Whitehead.T.P, Robinson.D, Allaway.S, Syms.J, Hale.A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.* 1995 41(1): 32-5.

YakhlefGhania, (2011) "Etude de l'activite biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris* L. et *laurusnobilis* L". Mémoire de magister, Université El-Hadj Lakhdar-Batna.

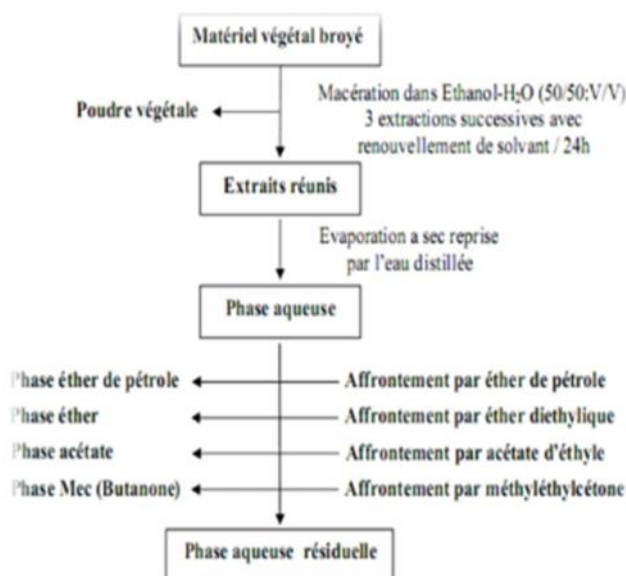
Yen.G.C, Chen .H.Y, Peng. H.H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J. Agr. Food Chem.* 1997 45: 30-34

Yoshino.K , Tomita.I, Sano.M, Oguni.I, Hara.Y, Nakano.M. Effects of long-term dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in rats. *Media, Pennsylvania* 1994 17(3): 79-85.

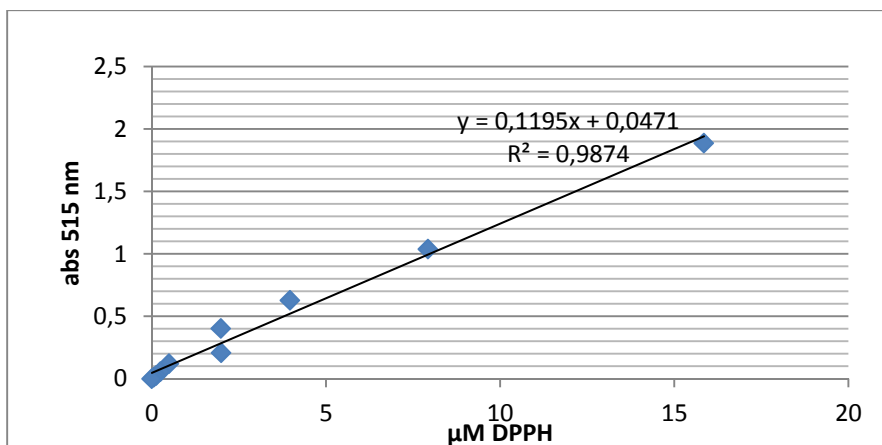
Annexe:

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir	Flavonols 5, 6, 7, tri OH libres Flavonols 5, 7, 8, tri OH libres
Brun noir	3-OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5-OH et 4' OH Flavones 3-OR et 5 OH ,4'-OH Flavones 6 ou 8 OH Chalcones Dihydroflavonols Isoflavones Flavanones
Bleu claire (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5-OH libre avec 3 OH substitué
Jaune terne	Flavonols 3- OH libre avec ou sans 5-OH libre
Jaune	
Fluorescence orangée	
Jaune vert brillant	5 OH libre ou 5 OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3OH libres Aurones Chalcone Flavanones
Jaune pâle	dihydroflavonols
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 di glucoside

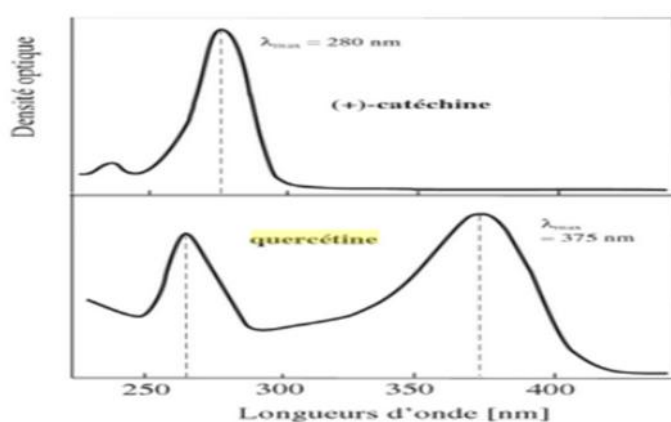
Annexe 01 : La relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (Markham, 1982, Lahouel, 2005)



Annexe02 : l'extraction des polyphénols selon le protocole classique (merghem 2003)



Annexe 03: La courbe de calibration du DPPH•.µM



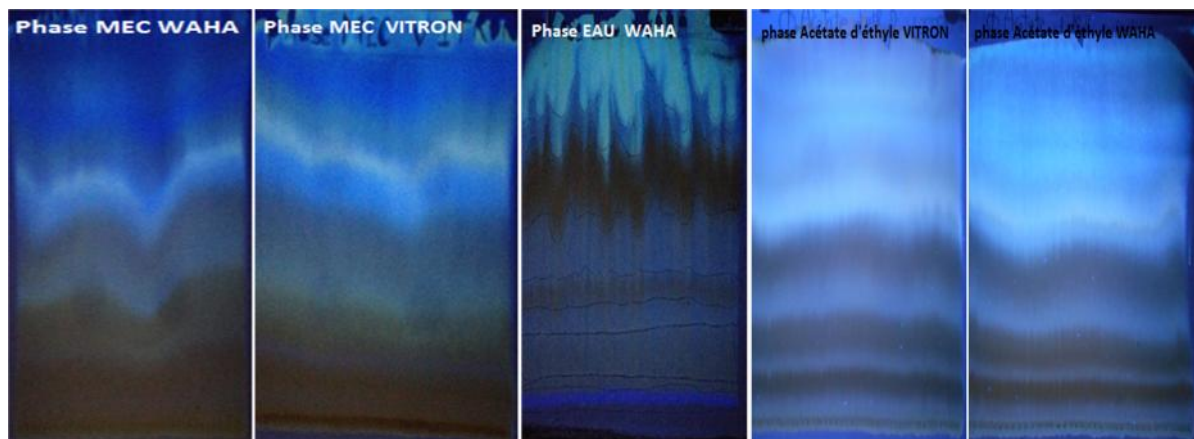
Annexe 04 : Quelques données de la littérature

spectre d'absorption de la catéchine et de la quercétine en UV

(Macheix et al., 2005)

Bande II	Bande I	Type des flavonoïdes
250-280	310-350	Flavones
250-280	330-360	Flavonols (3-OH substitué)
250-280	350-385	Flavonol (3-OH free)
245-275	310-330 320 pics	Isoflavones Isoflavones (5-deoxy6, 7-dioxygenates)
275-295	300-330 Epaulement	Flavanones et Dihydroflavonols
230-270 (faible intensité)	340-390	Chalcone
230-270	380-430	Aurones
270-280	465-560	Anthocyanidines et Anthocyanines

Annexe 05 : Caractéristiques des spectres UV-V des flavonoïdes (Markham, 1982)



Annexe06 : Comportement chromatographique des phases ;, Eau,Acétate d'éthyle et MEC des 2 variétés de blé dur.WAHA et VITRON

Variété WAHA					
Phase acétate		Phase MEC		Phase eau	
fluorescence	Rf	fluorescence	Rf	fluorescence	Rf
marron	0.02	marron	0.07	Violet	0.03
Jaune terne	0.1	JAUNE terne	0.13	Jaune pâle	0.13
Jaune	0.2	Bleu	0.22	Jaune	0.29
Jaune pâle	0.37	Jaune pâle	0.38	Marron	0.56
Jaune fluorescent	0.55	Bleu fluorescent	0.56	Jaune fluorescent	0.82
Bleu fluorescent	0.71	Jaune	0.63		
Violet	0.87	Violet	0.85		
Spot hétérogène Jaune vert rose	0.97				

ANNEXE07 :comportement chromatographique(CCM préparative) des phases ,Acétate , MEC ,Eau de la variété WAHA

Variété VITRON					
Phase acétate		Phase MEC		Phase eau	
fluorescence	Rf	fluorescence	Rf	fluorescence	Rf
Jaune pâle	0.02	Marron	0.08	Bleu fluorescent	0,03
Jaune terne	0.13	Bleu	0.22	Jaune pâle	0.13
Jaune	0.24	Jaune terne	0.35	Marron clair	0.29
Jaune fluorescent	0.43	Jaune pâle	0.58	Marron brun	0.56
Jaune pâle	0.59	Bleu fluorescent	0.7	Jaune fluorescent	0.82
Bleu fluorescent	0.74	Jaune fluorescent	0.78		
Jaune fluorescent	0.84	Violet	0.88		
Rose	0.94				

Annexe08 :comportement chromatographique (CCM préparative)des phases ,Acétate, MEC ,EAU de la variété VITRON

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude quantitative et qualitative des polyphénols y compris essentiellement les flavonoïdes chez deux variétés de blé dur (*Triticum durum*) WAHA et VITRON.

Les résultats obtenus de l'étude quantitative des extraits méthanoliques montrent que la teneur en polyphénols est considérable chez les deux variétés.

L'étude qualitative des polyphénols commence par des répartitions entre solvants de polarités différentes (du moins polaire au plus polaire). Cela a conduit à l'obtention de différentes phases, leurs compositions sont identifiées par la chromatographie sur couche mince et le spectrophotomètre UV-Visible.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits analysés a été réalisée par la détermination de leur pouvoir de piégeage du radical du DPPH° en estimant leurs activités antioxydantes par l'utilisation des réactions anti radicalaires témoins avec l'acide gallique.

Le test au DPPH• n'est pas quantitatif, il permet de comparer les différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH•.

Notre résultat confirme également une certaine corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-radicalaire,

Mots clés : blé dur, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante

Summary

Our work focused on the quantitative and qualitative study of polyphenols, including mainly flavonoids, in two varieties of durum wheat (*Triticum durum* DSF) WAHA and VITRON.

The results obtained from the quantitative study of the methanolic extracts show that the polyphenol content is considerable in both varieties.

The qualitative study of polyphenols begins with distributions between solvents of different polarities (from the least polar to the most polar). This Distribution has led to the obtaining of different phases, their compositions are identified by thin-layer chromatography and UV-Visible Spectrophotometer.

The evaluation of the antioxidant power of our analyzed extracts was carried out by the determination of their power to trap the radical of the DPPH° by estimating their activities antioxidant by the use of control antiradical reactions with gallic acid.

The test at DPPH• is not quantitative, it allows to compare the different extracts between them according to their ability to trap the DPPH•.

Our result also confirms a certain correlation between the phenolic compound content and the anti-radical activity,

Key words: durum wheat, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity

ركز عملنا علي الدراسة الكمية والنوعية للبوليفينولات ، بما في ذلك المركبات الفلافونويدية، في نوعين من القمح
(Triticum durum) VITRON .
وتشير نتائج الدراسة الكمية للمستخلصات الميثانولية أن محتوى البوليفينول لا بأس بها في كلا من لصفين
VITRON بعد ان تم تحديد نسبها في كل من النوعين بطريقة المايرة الكمية اللونية ب Folin-ciocalteu
الدراسة النوعية للبوليفينولات بتوزيعات بين المذيبات من مختلف الأقطاب (من الأقل قطبيه إلى القطب الأكثر). ويؤدي
، ويتم تحديد تركيباتها بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا الطبقيّة الرقيقة والمقياس
الطيفي المرئي فوق البنفسجية.
وقد اجري تقييم القوه المضادة من المقططات المحللة لدينا من تحديد
DPPH وتؤكد نتيجتنا أيضا وجود ارتباط معين بين المحتوي المركب الظاهري والنشاط المناهض الراديكالي .
اخيرا هذا العمل مكننا من تدعيم المعلومة الخاصة بفعالية الفلافونويدات ضد المؤكسدات.
لمفتاحية: القمح القاسي، البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة.

Année universitaire : 2016/2017

**Présenté par : BARA Mouna
HAMADOU Hadjer**

Intitulé: L'étude phytochimique d'herbe du blé dur (Triticum durum) de deux variétés WAHA et VITRON et l'évaluation de leur activité antioxydante.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé

Ce travail est réalisé dans le contexte de la recherche d'une activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) de deux variétés WAHA et VITRON.

nous avons pu montrer que les extraits phénoliques des deux variétés de blé dur ont une activité antiradicalaire plus ou moins puissante, cette activité est en corrélation avec la quantité des polyphénols dosés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, suivi d'une CCM, cette dernière et grâce à une analyse spectrale nous a permis d'identifier que la plupart des composé phénoliques présents dans ces extraits appartiens à la classe des flavonoïdes et en particulier des flavones tels que Apigénine ,5,hydroxyflavone, des flavone méthylés tels que : 3,5,6,7,8 pentamethoxyflavone ,3',5,5',trihydroxy 3,4',6,7 tetra methoyflavone . Des flavones glycosylés : Vitexin Isovitexin, Saponarine, et des flavonols tels que la Quercetagine 3',4', 5,6, 7 pentamethyl ether qui ont une propriété anti-radicalaire évaluée dans les extraits méthanoliques.

Mots clés : Extraits phénoliques, pouvoir antioxydant, Blé dur (*Triticum durum*)

Laboratoire de recherche : laboratoire de Développement et Valorisation des Ressources Phytogénétiques à l'université des frères Mentouri Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : BOUSABA Bachir (MCB)

Rapporteur : *MERGHEM Rachid* (Professeur - UFM Constantine)

Examineur : BELBACHE Hanane (MAA)

Date de soutenance : 20/06/2016