

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الأخوة منتوري قسنطينة
UNIVERSITÉ DES FRÈRES
MENTOURI CONSTANTINE

كلية علوم الطبيعة والحياة *Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية و *Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire*
الجزينية

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 Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude comparative de la composition phénolique et l'évaluation
de l'activité antioxydante de *Mentha pipérita* et d'*Origanum vulgare*
(Lamiacées)**

Présenté par : LAMRANI WISSAM

Le 20/06/2023

BOUCHEMAT RAYANE

Jury d'évaluation :

Président du jury: KHEDARA ABDELKRIM (MCA - Université Frères Mentouri,
Constantine 1).

Encadreur : MERGHEM RACHID (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur: MADACI BRAHIM (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

On remercie du plus profond de nos cœurs, Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la force, le courage et la volonté pour achever ce travail.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de monsieur **MERGHEM R**, Professeur et responsable du laboratoire de Développement et Valorisation des Ressources Phytogénétiques à l'université des frères Mentouri Constantine, Nous lui exprimant nos remerciements les plus sincères ainsi que notre profondes gratitude pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, ses critiques, ses conseils et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à monsieur **KHEDARA A**, MCA à l'université des frères Mentouri Constantine, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à monsieur **MADACI B**, MCA à l'université des frères Mentouri Constantine, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Enfin, Nos remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire, ainsi que tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, a celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour et à l'être le plus cher de ma vie, Ma mère

A mon premier amour, mon super héros pour toujours, Mon père; je suis fière d'être ta fille

Merci pour les sacrifices, la bonne éducation, les qualités humaines, Merci pour tous

A mes chères frères et sœur ; Oussama, Khalil et à ma princesse Amira. Que dieu leurs donne une langue et joyeuse vie

A ma chère grande mère et à la mémoire de mes grands parents

A tous les membres de ma grande famille

A tous mes amies et à tous ceux qui m'aiment ...

Sans oublier mon adorable binôme Rayane, pour son soutien et sa patience tout au long de ce travail

WISSAM

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite. Que Dieu te procure une bonne santé et une longue vie mon très cher Papa Ammar

A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, à ma très chère Maman Fatiha

A ma très belle chère sœur unique Anfal, à mon adorable petit frère Ahmed Taki Eddine, à ma cousine Houda

A mon fiancé Ali qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À tous les membres de ma famille petits et grands et tous les amis qui m'ont encouragé pour la réalisation de ce travail.

Enfin je remercie la plus belle amie du monde Wissam pour son soutien moral, sa fatigue, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travaille.

Rayane

Sommaire

Sommaire

RESUME

ABSTRACT

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

PARTIE 1: Etude bibliographique

Chapitre 1: Synthèse bibliographique sur les espèces étudiées

I. Les plantes médicinales	2
II. La famille des Lamiacées	2
1. Généralités	2
2. Utilisations	2
III. Espèces étudiées	2
1. <i>Mentha pipérta</i>	2
1.1. Description botanique	3
1.2. Propriétés pharmacologiques	3
2. <i>Origanum vulgare</i>	3
2.1. Description botanique	4
2.2. Propriétés pharmacologiques	4
IV. Etat actuel de la composition phénolique de <i>Mentha pipérta</i> et d' <i>Origanum vulgare</i>	5

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

I. Introduction	6
II. Les composés phénoliques	7
1. Définition	7
2. Biosynthèse des composés phénoliques	7
2.1. La voie de Shikimate	7
2.2. La voie de l'acide malonique	8
3. Classification des composés phénoliques	8
3.1. Acides phénols	9
3.2. Acides coumariques	9

Sommaire

3.3. Stilibènes	9
3.4. Lignanes	9
3.5. Flavonoïdes	9
3.6. Tanins	13
III. Rôles et intérêts des composés phénoliques	13
1. Chez les végétaux	13
2. Chez l'homme	13
Chapitre 3 : Pouvoir antioxydant des composés phénoliques :	
I. Oxydation	15
1. Stress oxydatif	15
2. Radicaux libres	15
2.1. Sources exogènes	15
2.2. Sources endogènes	15
II. Système de défense antioxydant	16
1. Système enzymatique	16
2. Système non enzymatique	17
III. Composés phénoliques comme antioxydants	18
PARTIE II : Matériel et méthodes	
I. Matériel végétal	19
II. Etude quantitative	19
1. Extraction solide/liquide (Macération à froid)	19
2. Purification	19
3. Dosage des composés phénoliques	19
4. Dosage des flavonoïdes	20
III. Etude qualitative	21
1. Extraction solide/liquide (Macération à froid)	21
2. Chromatographie de partage (partition entre solvants)	22
3. Dosage des composés phénoliques	25
4. Dosage des flavonoïdes	25
5. Diagnostic CCM	25
6. Spectrophotométrie UV-visible	28
IV. Evaluation du pouvoir antioxydant	29

Sommaire

PARTIE III : Résultats et interprétations

I.	Etude quantitative	31
1.	La teneur en composés phénoliques	31
2.	La teneur en flavonoïdes	33
II.	Etude qualitative	34
1.	La teneur en composés phénoliques	34
2.	La teneur en flavonoïdes	35
3.	Diagnostic CCM	36
3.1.	Visualisation des plaques	37
3.2.	Identification des molécules	41
3.3.	Comparaison des phases de <i>Mentha pipérta</i> et <i>Origanum vulgare</i>	43
4.	Spectrophotométrie UV-visible	44
III.	Evaluation du pouvoir antioxydant	47
1.	Etude quantitative	47
2.	Etude qualitative	49
	Conclusion et perspectives	52
	Références bibliographiques	54
	Annexe	
	Résumé	

Résumé

Résumé :

L'objectif de ce travail est l'étude comparative de la composition phénolique ainsi la capacité antiradiculaire des extraits des feuilles de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* qui sont deux espèces qui appartiennent à la famille des lamiacées.

Les extraits hydroalcooliques (éthanol/eau) de ces plantes ont été obtenus par macération à froid. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes a été évaluée par la méthode de Folin-ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement. L'analyse quantitative montre la richesse de *Mentha pipérta* en composés phénoliques et les deux espèces en flavonoïdes. L'analyse qualitative des phases représente une variation en composés phénoliques et en flavonoïdes chez les deux espèces.

Une séparation par CCM, révélation chimique par un réactif spécifique, visualisation sous UV à 365 nm suivie par une analyse spectrale UV-visible a permis de mettre en évidence de nombreuses spots dans toutes les phases et d'identifier les molécules des deux espèces et cela indique que les deux plantes sont riches en flavonoïdes notamment en flavones et en flavonols.

L'évaluation du pouvoir antioxydant in vitro par la méthode de piégeage du radical libre DPPH permet de conclure que le taux de ce pouvoir est très élevé chez *Mentha pipérta* par rapport à celle d'*Origanum vulgare* pour l'aspect quantitatif et qualitatif.

Mots clés : *Mentha pipérta*, *Origanum vulgare*, composés phénoliques, flavonoïdes, pouvoir antioxydant.

Abstract:

The objective of this work is the comparative study of the phenolic composition as well as the antiradical capacity of the extracts of the leaves of *Mentha piperita* and *Origanum vulgare* which are two species belonging to the Lamiaceae family.

The hydroalcoholic (ethanol/ water) extracts of these plants were obtained by cold maceration. The content of phenolic compounds and flavonoids was evaluated by the method of Folin-ciocalteu and aluminum trichloride respectively. The quantitative analysis shows the richness of *Mentha piperita* in phenolic compounds and the two species in flavonoids. The qualitative analysis of the phases represents a variation in phenolic compounds and flavonoids in the two species.

A separation by thin layer chromatography, chemical revelation by a specific reagent, visualization under UV at 365 nm followed by a UV-visible spectral analysis made it possible to highlight numerous spots in all the phases and to identify the molecules of the two species and that indicates that both plants are rich in flavonoids including flavones and flavonols.

The evaluation of the antioxidant power in vitro by the method of scavenging of free radical DPPH makes it possible to conclude that the level of this power is very high in *Mentha piperita* compared to that of *Origanum vulgare* for the quantitative and qualitative aspect.

Key words: *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant power.

الملخص:

الهدف من هذا العمل هو الدراسة المقارنة للتركيب الفينولي وكذلك القدرة المضادة للجذر الحر لمستخلصات أوراق *النعناع البري* و*البردقوش الشائع* وهما نوعان ينتميان إلى عائلة الشفويات. تم الحصول على المستخلصات المائية الكحولية (ماء/إيثانول) لهذه النباتات عن طريق النقع البارد. تم تقييم محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات بطريقة Folin-ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. يُظهر التحليل الكمي ثراء النعناع بالمركبات الفينولية وثراء النوعين بالفلافونويدات. يبين التحليل النوعي تبايناً في المركبات الفينولية والفلافونويدات في النوعين. أدت كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، والكشف الكيميائي بواسطة كاشف معين، والتصوير تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 365 نانومتر متبوعاً بالتحليل الطيفي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية، إلى تسليط الضوء على العديد من البقع وتحديد جزيئات النوعين وهذا يشير إلى أن كلا النباتين غنيان بالفلافونويد بما في ذلك الفلافون والفلافونول. إن تقييم قوة مضادات الأكسدة في المختبر من خلال طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH يجعل من الممكن استنتاج أن مستوى هذه القدرة مرتفع جداً عند *النعناع البري* مقارنة بمستواه في *البردقوش الشائع* من حيث الجانب الكمي والنوعي.

الكلمات المفتاحية: *النعناع البري*، *البردقوش الشائع*، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، مضادات الأكسدة.

Liste des figures

Liste des figures

Figure 01 : Les feuilles de <i>Mentha pipérита</i>	3
Figure 02 : Les feuilles d' <i>Origanum vulgare</i>	4
Figure 03 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire	6
Figure 04 : Synthèse de préphénate, de la tyrosine et la phénylalanine via l'acide shikimique	7
Figure 05 : Synthèse de l'acide cinnamique et coumarique	8
Figure 06 : Biosynthèse des flavonoïdes	11
Figure 07 : Aperçu de différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	16
Figure 08 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.	24
Figure 09 : Les deux bandes d'absorption des flavonoïdes.	28
Figure 10 : Réaction du radical stable DPPH avec un composé antiradicalaire.	30
Figure 11 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	31
Figure 12 : Teneur des extraits en composés phénoliques.	32
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.	33
Figure 14 : Teneur des extraits en flavonoïdes.	33
Figure 15 : Teneur des phases et du totum de <i>Mentha pipérита</i> et <i>Origanum vulgare</i> en composés phénoliques	34
Figure 16 : Teneur des phases et du totum de <i>Mentha pipérита</i> et <i>Origanum vulgare</i> en flavonoïdes	35
Figure 17 : CCM analytique des flavonoïdes des quatre phases de <i>Mentha pipérита</i> .	38
Figure 18 : CCM analytique des flavonoïdes des quatre phases d' <i>Origanum vulgare</i>	39
Figure 19 : Comparaison des phases, A: Ether diéthylique, B: Acétate d'éthyle, C: MEC, D: Eau de <i>Mentha pipérита</i> et <i>Origanum vulgare</i>	43
Figure 20 : Spectre UV-visible de A: acide gallique, B: quercétine	44
Figure 21 : Cinétique de réduction du DPPH des extraits	47
Figure 22 : Histogramme du pourcentage d'inhibition des extraits	48
Figure 23 : Cinétique de réduction du DPPH par les phases et le totum de <i>Mentha pipérита</i>	49
Figure 24 : Cinétique de réduction du DPPH par les phases et totum d' <i>Origanum</i>	49

Liste des figures

vulgare

Figure 25 : Comparaison des phases et des totums de *Mentha pipéríta* et *Origanum vulgare* (après 30 min) **50**

Figure 26 : Histogramme du pourcentage d'inhibition des phases et du totum de *Mentha pipéríta* et *Origanum vulgare* **51**

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01: La composition phénolique de <i>Mentha pipérита</i> et d' <i>Origanum vulgare</i>	5
Tableau 02: Principales classes des composés phénoliques.	8
Tableau 03: Structures des flavonoïdes importants pour l'industrie pharmaceutique.	12
Tableau 04: Relation Rf-Structure des flavonoïdes.	27
Tableau 05: Relation fluorescence-structure sous UV et flavonoïdes.	27
Tableau 06: Principales caractéristiques des spectres UV-visible des classes flavoniques.	29
Tableau 07: Comportement chromatographique des phases de <i>Mentha pipérита</i> .	41
Tableau 08: Comportement chromatographique des phases d' <i>Origanum vulgare</i> .	41
Tableau 09: Spectres d'absorption des phases de <i>Mentha pipérита</i> .	44
Tableau 10: Spectres d'absorption des phases d' <i>Origanum vulgare</i> .	46

Liste des tableaux

Liste des abréviations

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AG : Acide gallique
- Al³⁺ : Aluminium
- AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium
- ATP : Adénosine triphosphate
- CAT : Catalase
- CCM : Chromatographie sur couche mince
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
- DROs : Dérivés réactif de l'oxygène
- e⁻ : Electron
- Eq AG/g : Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche
- Eq Q/g : Equivalent quercétine par gramme de matière sèche
- ROS : espèces réactif à l'oxygène
- GPX : Glutathion peroxydase
- GR : Glutathion réductase
- GSH : Glutathion
- H⁺ : Proton
- H₂O : Eau
- HO· : Radical hydroxyle
- M : *Mentha pipérita*
- MEC : Méthyl éthyle cétone
- NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
- NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
- NaNO₂ : Nitrate d'ammonium
- NaOH : Hydroxyde de sodium
- O : *Origanum vulgare*
- O₂⁻ : Anion superoxyde
- O₂ : Oxygène
- PI : Pourcentage d'inhibition
- Q : Quercétine
- R² : Coefficient de corrélation

Introduction

Introduction

Selon (Merghem, 2011), Les plantes sont considérées comme une source naturelle de certaines molécules. Ces végétaux synthétisent en plus des macronutriments, minéraux et vitamines des phytonutriments qui ont parfois des activités biologiques; pharmacologiques (plantes médicinales) ou nutritionnelles (aliments). Ces substances bioactives végétales qu'appartiennent essentiellement au groupe des composés phénoliques connaissent un intérêt croissant dans le monde médical et dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire en raison de leurs bienfaits pour la santé humaine.

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus distribuées dans le pourtour méditerranéen précisément en Algérie et souvent consommée sous forme des tisanes thérapeutiques. Pour cela nous sommes intéressés à étudier *Mentha pipérta* et *Origanum vulgare* qui sont deux espèces appartenant à cette famille.

L'objectif de notre étude consiste à dévoiler la richesse de nos plantes en composés phénoliques et en flavonoïdes, déterminer leurs propriétés antioxydantes et faire une étude comparative entre eux.

Notre travail sera structuré comme suit :

- Une première partie bibliographique qui comporte :

Le premier chapitre porte sur une synthèse bibliographique sur les espèces étudiées.

Le deuxième chapitre englobe une présentation sur les métabolites secondaires.

Le troisième chapitre décrit l'oxydation et le système antioxydant.

- Une deuxième partie expose le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.

- Une troisième partie présente les résultats ainsi que leurs interprétations.

A la fin du travail, l'ensemble des résultats et des perspectives sont regroupés dans une conclusion générale.

Etude
bibliographique

Synthèse
bibliographique sur
les espèces étudiées

I. Les plantes médicinales :

L'histoire de ces plantes est associée à l'évolution des civilisations. Elles occupent une place importante en médecine traditionnelle dans toutes les régions du monde. Le terme plante médicinale désigne toutes les espèces végétales qui ont des propriétés thérapeutiques, ces traitements naturels phytothérapeutiques sont plus efficaces et plus sûrs que les médicaments avec moins d'effets secondaires. (Bousta et Ennabili, 2011)

II. La famille des lamiacées :

1. Généralités :

La famille des Lamiacées (labiées) dérivée du mot latin (Labia), parmi les premières familles à fleurs distinguées par les botanistes et considérée parmi les familles les plus courantes du règne végétal. Cette famille comprend plusieurs genres tels que : *Lavandula*, *Mentha*, *Nepeta*, *Origan*, *Teucrium*, *Salvia* et *Thymus*, qui sont riches en composés phénoliques, en huiles essentielles, en tanins, en flavonoïdes, en iridiés glycosylés, en quinones, en coumarines, en terpénoïdes, en saponines et occasionnellement en alcaloïdes. (Naghbi et al, 2005)

2. Utilisations :

C'est une grande famille typique du monde végétal, connue par leur large gamme d'activités thérapeutiques telles que les activités analgésiques, antioxydantes, anticardiovasculaires, antitumorales, antifongiques et antidiabétiques. (Naghbi et al, 2005)

III. Espèces étudiées:

1. *Mentha pipérита*:

Mentha pipérита est une plante qui appartient à la famille des lamiacées d'origine des régions méditerranéennes, actuellement elle est largement cultivée dans le monde. Résulte d'une hybridation entre *Mentha aquatica* et *Mentha verte* pour la première fois en Angleterre à la fin du XVIIe siècle et au commencement du XVIIIe siècle d'où elle se répandit très vite dans toute l'Europe et en Afrique du Nord. (Frampton, 2009)

1.1 Description botanique:

D'après (Benayad, 2008), *Mentha pipérита* est une plante herbacée, vivace à végétation vigoureuse, son odeur a une pénétration spéciale et une saveur aromatique brûlante mais laisse une sensation de fraîcheur. C'est une herbe qui se reproduit à partir de nombreux stolons, chevelues, rampantes, traçantes, aériennes ou souterraines à racine adventice. Elle est de 50 à 80 cm de hauteur. Des tiges et des rameaux sont rougeâtres à section carrée. Ses feuilles sont ovales ou lancéolées et crénelées en scie opposée par paires longues de 04 à 10 cm courtement pétiolées, velues et d'un vert foncé sur la face supérieure, se teignant de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre, elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes. Les fleurs sont petites, violacées, forment des épis très courts, ovoïdes et à l'extrémité des rameaux. Le fruit est divisé en quatre parties et entouré par un calice persistant.



Figure 1: Les feuilles de *Mentha pipérита* (Benayad, 2008)

1.2 Propriétés pharmacologiques:

La menthe est généralement un stimulant, mais elle possède également des légères propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antimicrobiennes et antiallergiques. (Naghibi et al, 2005)

2. *Origanum vulgare* :

Le latin *origanum* est l'étymologie du terme origan, dérivé du grec *origanon* dont *Oros* signifiant montagne et *Ganos* signifiant riant, aspect riant signifiant celui qui aime les montagnes. En effet, l'origan a abondamment décoré les montagnes de la mer méditerranéenne et assure leur beauté. (Dubois et al, 2005)

2.1 Description botanique:

L'*Origanum vulgare* est une plante herbacée vivace de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froissent. Elle est ainsi reconnaissable par son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté (jusqu'à 30 paires par tige), généralement ovales et à pointe émoussée, elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices non apparentes (jusqu'à 800 par cm²). **(Dubois et al, 2005)**



Figure 2: Les feuilles d'*Origanum vulgare* **(Bernard, 2019)**

2.2 Propriétés pharmacologiques:

Cette plante est connue par leurs activités antioxydantes, anticardiovasculaires, antitumorales, antifongiques et antidiabétiques. **(Naghbi et al, 2005)**

IV. Etat actuel de la composition phénolique de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare* :

Tableau 1: la composition phénolique de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare*

Espèce	Composition phénolique	Composition en flavonoïdes	Référence
<i>Mentha pipérита</i>	Acide rosmarinique, acide cryptochlorogénique, acide chlorogénique, acide protocatéchuique, acide caféique, acide isochlorogénique	Cynaroside (Lutéoline-7-glucoside), Naringine (naringénine 7-rhamnoglucoside)	(Elansary et al, 2020)
<i>Origanum vulgare</i>	Acide rosmarinique	Quercétine, lutéoline, kaempférol	(Hanganu et al, 2020)

Les métabolites secondaires

I. Introduction :

Les plantes ont une grande importance pour la survie de l’homme et des différents écosystèmes, grâce à leur riche composition moléculaire qui intervienne dans l’ensemble des réactions biochimiques et enzymatiques ayant lieu dans l’organisme. Il existe deux types de ces molécules : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

(Hartmann, 2007)

Selon (Merghem, 2009), les végétaux sont capables de synthétiser d’autres molécules appelées biomolécules végétales dont le rôle au niveau de la plante n’est pas encore parfaitement élucidé. Ces molécules n’entrent pas dans le métabolisme générale (métabolisme primaire) des végétaux donc on l’appelle les métabolites secondaires, mais peuvent jouer des différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense et rôle de résistance.

Ils sont classés en trois grandes classes :

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins), et les quinones.
- Les terpènes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes.

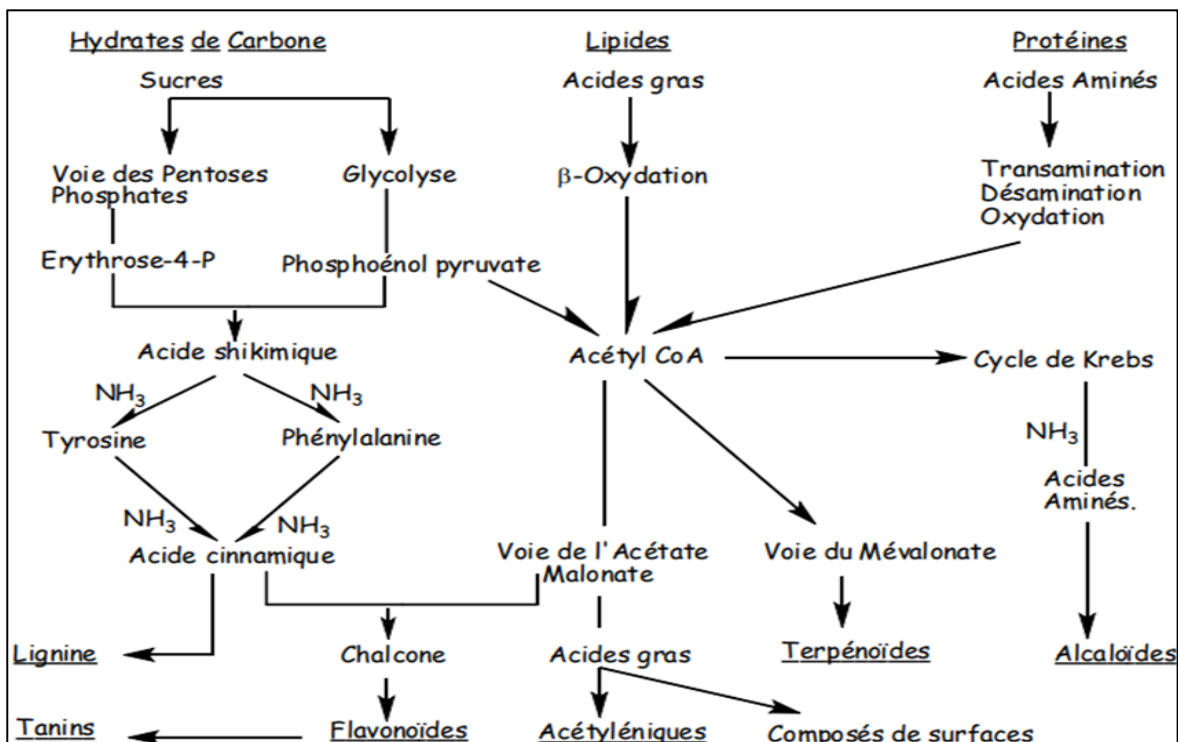


Figure 3: Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (Merghem, 2020)

II. Les composés phénoliques :

1. Définition :

Ces composés constituent le groupe des substances le plus large du règne végétal ; plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues. Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction. La structure des composés phénoliques naturels varie à partir des molécules simples appelées acides phénoliques. (Macheix et al, 2005).

2. Biosynthèse des composés phénoliques :

La biosynthèse des composés phénoliques se fait par trois voies principales qui sont :

2.1 La voie de shikimate :

2.1.1 Synthèse des acides aminés aromatiques :

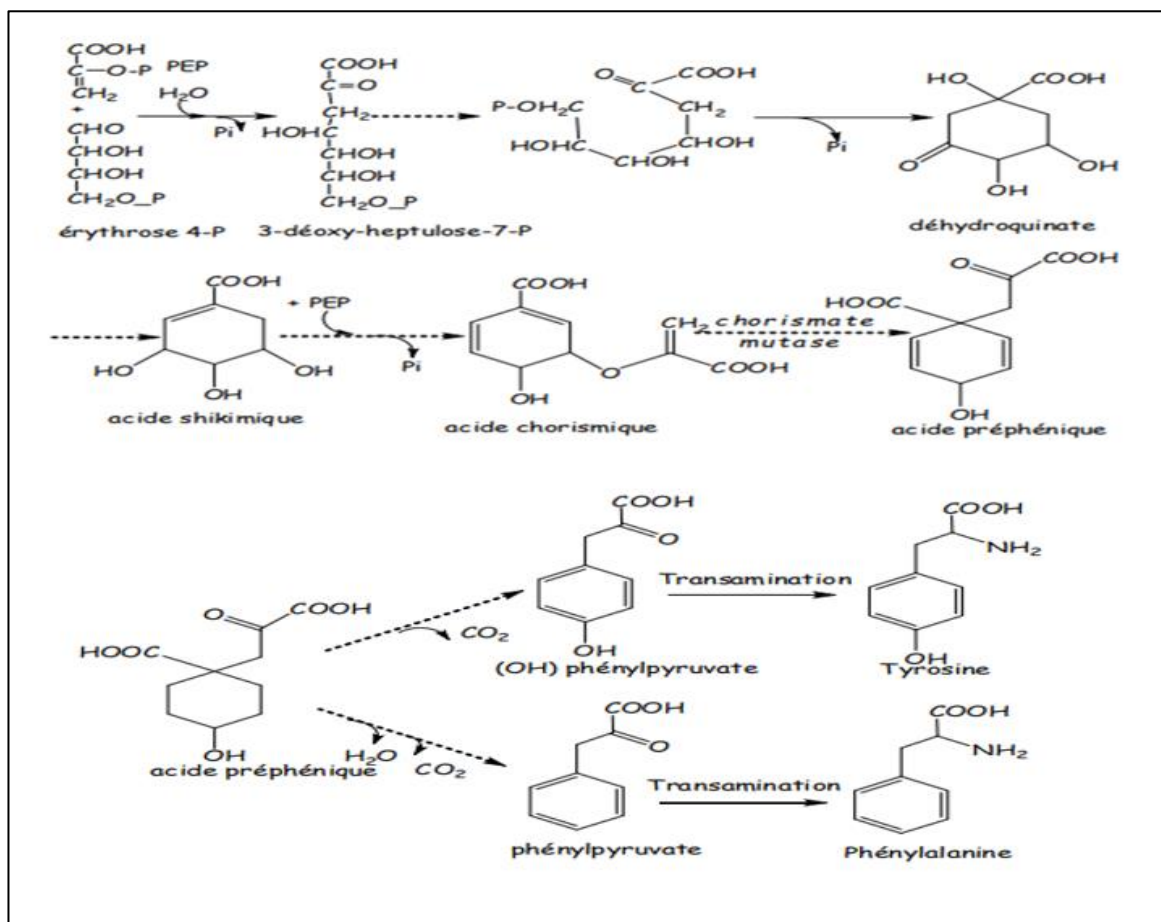


Figure 4: Synthèse de préphénate, de la tyrosine et la phénylalanine via l'acide shikimique (Merghem, 2020)

2.1.2 Synthèse des métabolites secondaires :

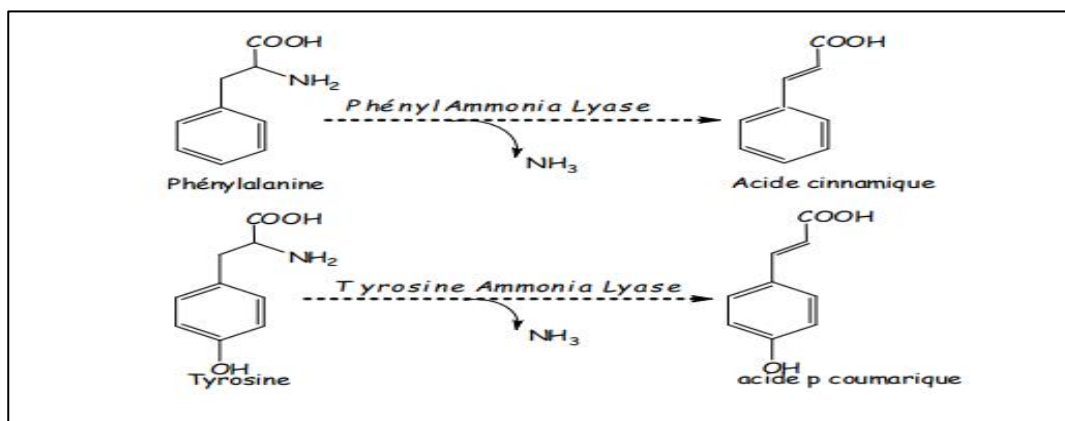


Figure 5: Synthèse de l'acide cinnamique et coumarique (Merghem, 2020)

2.2 La voie de l'acide malonique :

Ce mode est prédomine chez les plantes non vertes (synthèse de l'acide pénicillique par les Penicillium, synthèse des anthoquinines chez les Lichens et les Champignons).

Cette voie consiste à la cyclisation des chaînes polycétoniques, issues de la condensation de groupements acétates. Cette condensation ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA (produit issu des processus cataboliques de la glycolyse et de la β -oxydation, en malonate) en malonyl-CoA. (Merghem, 2020).

3. Classification des composés phénoliques :

D'après (Macheix et al, 2005), les composés phénoliques sont classés selon :

- La voie de biosynthèse.
- Degré de complexité et modification du squelette de base.
- Liaisons possibles avec d'autres molécules.

Tableau 2: Principales classes des composés phénoliques (Merghem, 2009)

Nombre de C	Classe	Exemples / origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone, catéchol
C6-C1	Acides phénols	Acide salicylique, acide p (OH) benzoïque
C6-C3	Acide cinnamique	Acide cafféique, férulique (Café, pomme)
	Coumarines	Esculetine, Scopolétine
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol (Pin)

(C6-C3) n	Lignines	Bois, noyau des fruits.
C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine, lutéoline, quercétine. Génistéine (Soja) Pélagonidine
(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone
(C6-C3-C6) n	Proanthocyane (tanins)	Procyanidines, Prodelphinidines (Raisin rouge)

3.1 Acides phénols :

Il existe deux types :

3.1.1 Acide hydroxybenzoïques :

Dirivés de l'acide benzoïque avec la formule de base C6-C1. (Macheix, 2005)

3.1.2 Acides hydroxycinnamiques :

Dirivés de l'acide cinnamique avec la formule de base C6-C3. (Macheix, 2005)

3.2 Acides coumariques :

Caractérisés par une structure de base du type benzo-2-pyrone (C6-C3) avec une cyclisation interne de la chaîne latérale. (Macheix et al, 2005)

3.3 Stilbibènes :

Dirivés de l'acide hydroxycinnamique avec la formule de base C6-C2-C6. (Merghem, 2020)

3.4 Lignanes:

Les lignanes sont des dimères formés de deux fragments C6-C3 qui sont des monomères issus de la voie des phénylpropanoïdes. (Merghem, 2020)

3.5 Flavonoïdes :

Ce sont les plus importants composés mixtes, ayant une structure de base C6-C3-C6. (Merghem, 2020)

3.5.1 Structure :

Les flavonoïdes ont tous la même structure de base: un squelette de quinze atomes de carbones, constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) reliés par une chaîne en C3 en formant l'hétérocycle (C), dont le cycle (A) est dérivé de l'acétate malonate et le cycle (B) est dérivé de la voie de shikimate sous l'effet de la chalcone synthétase. **(Merghem, 2000)**

3.5.2 Biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes résultent de la condensation de 3 groupements acétates (Sous forme d'acétyl-CoA) avec l'acide 4'(OH) cinnamoyl-CoA. Cette condensation conduit à la formation de 2 noyaux benzéniques (A) et (B) liés par une chaîne de 3 atomes de carbones (hétérocycle C). La chalcone synthase ou flavone synthase est un complexe multienzymatique comprenant trois sites, chacun d'eux assurant successivement l'addition des unités malonates dont l'accepteur est l'acide p-(OH) cinnamique. Ces substances sont synthétisées au niveau des chloroplastes à partir de cinnamoyl-CoA (provenant du réticulum endoplasmique). Certaines d'entre eux quittent les chloroplastes et s'accumulent dans les vacuoles (anthocyanes). Les flavonoïdes sont variés selon le degré d'oxydation de l'hétérocycle formé par la condensation avec un OH phénolique du noyau (A) et la chaîne latérale de l'acide cinnamique, **(Merghem, 2020)**

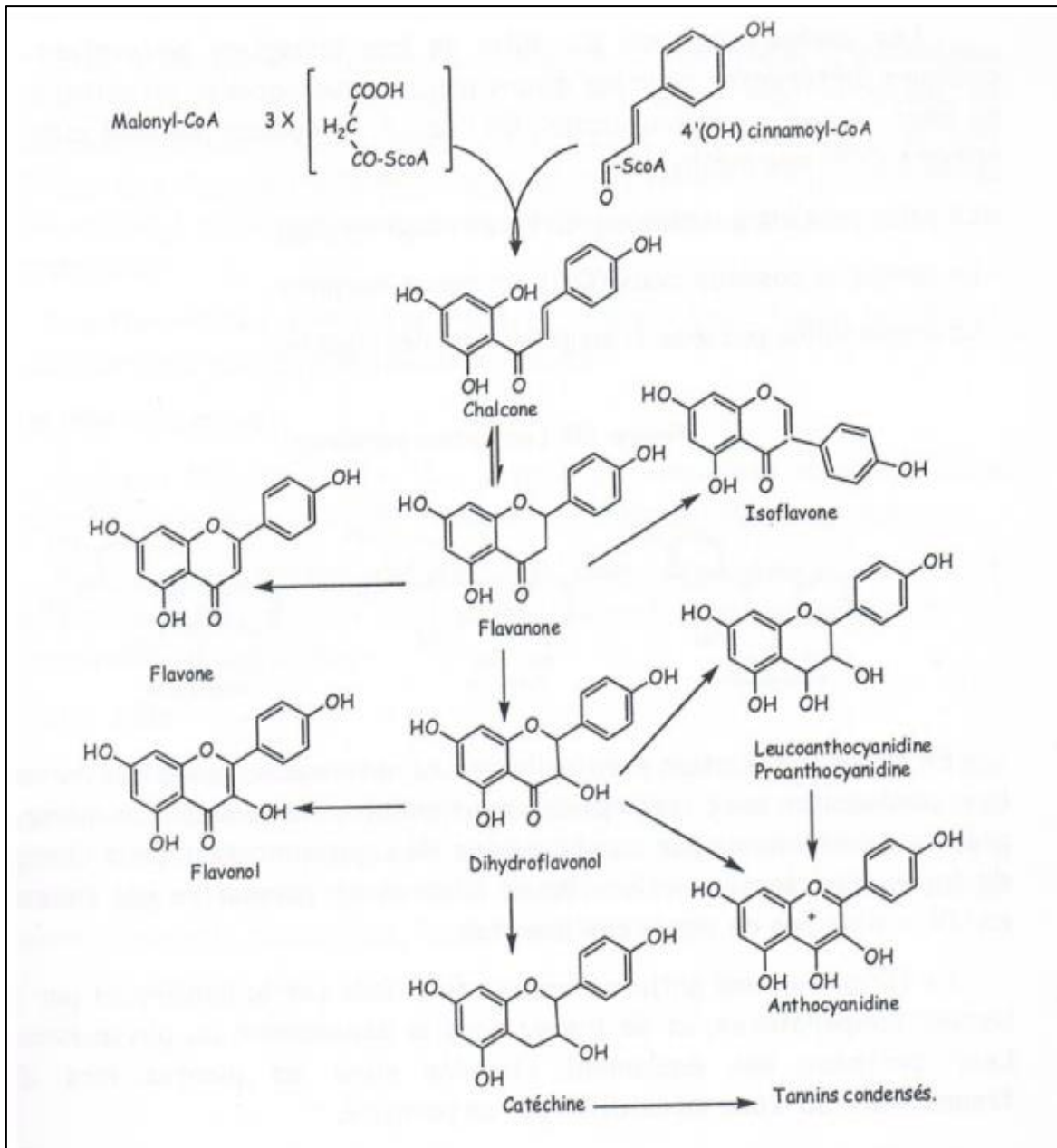
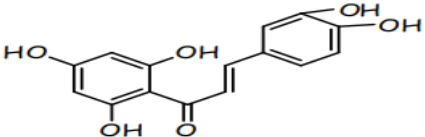
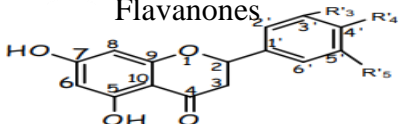
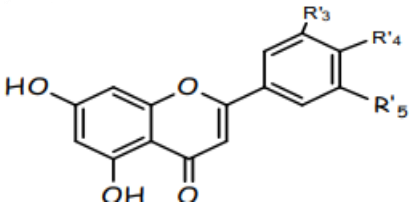
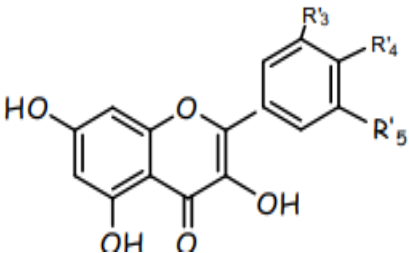
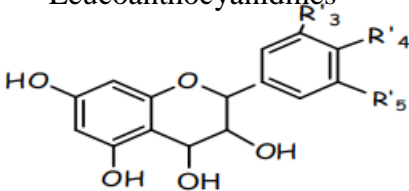


Figure 6: Biosynthèse des flavonoïdes (Merghem, 2020)

3.5.3 Classification des flavonoïdes :

Tableau 3: Structures des flavonoïdes importants pour l'industrie pharmaceutique (Merghem, 2020)

Nom de la molécule	R'3	R'4	R'5	Structure
Butéine				<p>Chalcone</p> 
Naringénine		OH		<p>Flavanones</p> 
Eriodictine	OH	OH		
Apigénine		OH		<p>Flavones</p> 
Acacétine		OCH3		
Lutéoline	OH	OH		
Diosmétine	OH	OCH3		
Triticine	OCH3	OH	OCH3	
Kaempférol		OH		<p>Flavonols</p> 
Kaempféridine		OCH3		
Quercétine	OH	OH		
Myricétine	OH	OH	OH	
Propelargonidine		OH		<p>Leucoanthocyanidines</p> 
Procyanidine	OH	OH		
Prodélfhénidine	OH	OH	OH	

3.6 Tanins :

Dans le monde végétal, presque tous les tanins sont des tanins hydrolysables ou des tanins condensés, certaines plantes contiennent les deux. (Macheix, 2005)

3.6.1 Tanins hydrolysables :

Sont des hétéropolymères des molécules de glucose et d'acide gallique (cas de gallotanins) ou ses formes dimériques: acide m-digallique, ac-ellagique (cas des ellagitanins). (Merghem, 2020)

3.6.2 Tanins condensés :

Appelés aussi proanthocyanidines, résultent de la condensation d'un flavane-3-ol ou flavane-3,4-diols à l'aide des liaisons C-C (molécules difficilement hydrolysables). (Merghem, 2020)

III. Rôles et intérêts des composés phénoliques:

1. Chez les végétaux :

Selon (Macheix et al, 2005), les composés phénoliques jouent un rôle très important dans l'aspect de la vie des plantes et aussi dans leurs utilisations par l'homme :

- Certain caractères physiologiques des plantes (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes,...).
- L'interaction avec l'environnement (avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV) ; dans la nature ou lors de la conservation après la récolte.
- Critères de qualité qui orientent l'homme dans sa consommation des végétaux (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles) et des produits qui en dérivent par transformation.
- Variations de caractéristiques végétales lors du traitement technologiques.

2. Chez l'homme :

Le corps humain est incapable de faire la biosynthèse de tous les antioxydants en particulier les composés de nature phénolique, l'ingestion journalière des polyphénols est importante. Les composés phénoliques sont présents dans la plupart des organes végétaux : graines, fruits, feuilles, ou autre organes (Oignon, jeune germination de blé et d'avoine, patate douce,...) et ils se trouvent dans les produits industriels issus de ces végétaux : jus de fruits, bière, vin, thé, chocolat, huile d'olive et dérivés des céréales. Les composés phénoliques sont responsables de la protection contre certaines maladies en raison de leurs

propriétés antiradicales et leur capacité d'interaction avec les enzymes. (Macheix et al, 2005).

**Pouvoir antioxydant
des composés
phénoliques**

I. Oxydation :

L'oxydation est un phénomène généré par les radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à capter un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont principalement tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires et les protéines. Dans le cas de l'enzyme, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de cette dernière, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort cellulaire. Ce phénomène touche l'ADN ou une partie du système traduction/ transcription. L'oxygène de l'air à l'état fondamental O_2 est peu réactif par rapport à des formes beaucoup plus réactives et donc plus toxiques. (Rolland, 2004)

1. Stress oxydatif :

Le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres notamment (ROS) et leur neutralisation par les antioxydants. (Shinde et al, 2012)

2. Radicaux libres :

Sont des atomes ayant un nombre impair d'électrons non appariés extrêmes instables, ces molécules peut agir avec d'autres molécules plus stables cherchant de capter l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne déclenche lorsque le radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui et cette dernière devient instable. (Kristina et marika, 2003)

2.1.Sources exogènes:

Les radicaux libres peuvent être d'origine exogène, comme les radiations X ou gamma, les rayonnements UV et les médicaments qui peuvent contribuer à la production des (ROS) qui se forment comme un des produits de leur métabolisme. (Shinde et al, 2012)

2.2.Sources endogènes :

Dans les cellules, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants : Mitochondrie, NADPH oxydase, Xanthine oxydase.

II. Système de défense antioxydant :

Les antioxydants sont des produits chimiques qui empêchent ou ralentissent les dommages causés par les radicaux libres. L'organisme est doué d'un ensemble des systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de lutter contre la surproduction des espèces oxydantes. Ces antioxydants sont non enzymatiques ou enzymatiques.

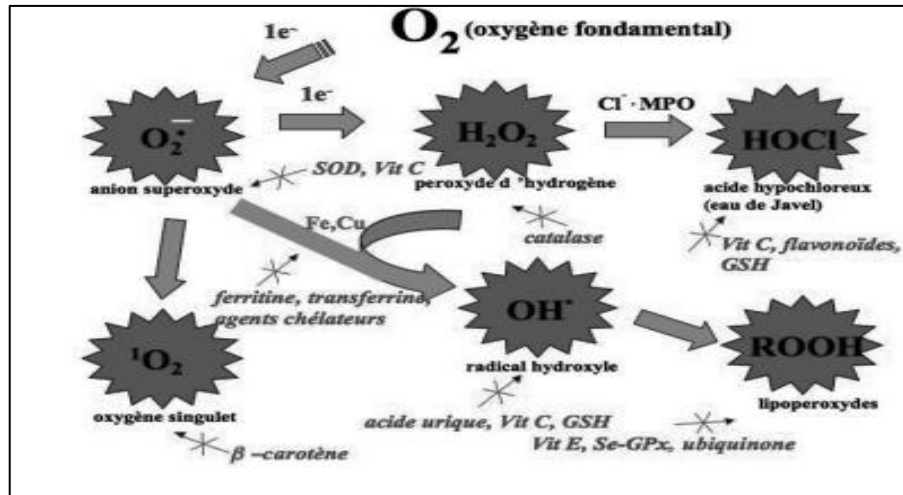


Figure 7: aperçu de différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production (**Haleng et al, 2007**)

1. Système antioxydant enzymatique :

Ce système comporte :

- **Glutathion peroxydase (GPx) :**

La fonction biochimique de la glutathion peroxydase est de réduire les hydroperoxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). (**Haleng et al, 2007**)

- **Superoxyde dismutase (SOD) :**

Le superoxyde dismutase est une métalloprotéine à activité enzymatique, elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. (**Haleng et al, 2007**)

- **Catalase (CAT) :**

Est une protéine formée de quatre chaînes polypeptidiques, comportant chacune un groupe hème, qui constituent les sites actifs de la CAT. Elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire pour prévenir la formation des radicaux hydroxyles (**Delattre et al, 2005**)

- 2. **Système antioxydant non enzymatique :**

Cet ensemble des molécules comprend plusieurs substances hydro- ou liposolubles endogènes synthétisées par les cellules et d'autres substances exogènes apportées par l'alimentation qui peuvent jouer le rôle des antioxydants. (**Haleng et al, 2007**)

- **Vitamine C:**

Chez les mammifères, la vitamine C est synthétisée dans le foie ou dans le rein. Cette vitamine est peut considérer comme un excellent piègeur des ROS ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. (**Haleng et al, 2007**)

- **Vitamine E :**

La vitamine E (α -tocophérol et γ -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres, ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. (**Haleng et al, 2007**)

- **Oligo-éléments :**

Le sélénium n'est pas un antioxydant, car il ne peut pas piéger les radicaux libres, mais il contrôle le fonctionnement des substances caractérisées par une activité antioxydante et joue le rôle d'un cofacteur de la GPx.

Le zinc est l'un des composants clés de la SOD capable de se lier à des nombreuses molécules et intervient ainsi dans des nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique et dans l'inhibition des réactions de formation des ROS induites par le fer ou le cuivre. (**Haleng et al, 2007**)

III. Composés phénoliques comme antioxydants :

Les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins sont des composés qui constituent la gamme des polyphénols végétaux. Ce sont des substances ubiquistes que l'on peut trouver dans les plantes. Ils ont la capacité de piéger des radicaux libres et d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont également capables de piéger les ions métalliques grâce à leurs propriétés chélatantes. (Delattre et al, 2005)

Partie II

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Phytochimie à Chaab-Ersas, Université des Frères Mentouri Constantine.

I. Matériel végétal :

Le matériel végétal de cette étude est constitué des feuilles de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare*, ce matériel a été collecté par un herboriste. L'identification botanique des espèces a été confirmée au laboratoire.

Les feuilles ont été nettoyées, séchées et broyées.

II. Etude quantitative :

1. Extraction solide/liquide (Macération à froid) :

Cette extraction a été réalisée par macération à froid de 01g de poudre des feuilles dans 100ml du solvant hydroalcoolique éthanol/eau (80:20), selon le protocole suivant :

- 01g *Mentha pipérита*
- 01g *Origanum vulgare*
- 0.8g *Mentha pipérита* / 0.2g *Origanum vulgare*
- 0.5g *Mentha pipérита* / 0.5g *Origanum vulgare*
- 0.2g *Mentha pipérита* / 0.8g *Origanum vulgare*

Après 24h, les extraits ont été filtrés et évaporés sous vide dans l'évaporateur rotatif pour éliminer le solvant et concentrer les extraits à sec. Les cinq extraits riches en molécules bioactives récupérées ont été dilués par 10ml d'eau distillé.

2. Purification :

La purification par l'éther de pétrole des extraits permet d'éliminer les pigments chlorophylliens et caroténoïdes, les lipides et tous composés non phénoliques.

3. Dosage des composés phénoliques :

La teneur en composés phénoliques est déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. (Singleton et Ross, 1965)

3.1 Principe :

Le Folin-Ciocalteu est un réactif qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀), lors de l'oxydation des composés phénoliques ce mélange est réduit en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (MO₈O₂₃). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 760 et 765 nm est proportionnelle à la quantité des composés présents dans les extraits végétaux. **(Boizot et Charpentier, 2006)**

3.2 Protocole :

3.2.1 Préparation de la solution mère d'acide gallique :

- 0.03g d'acide gallique.
- 100ml d'eau distillée.

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir de cette solution avec différentes concentrations (0-0,3 mg/ml).

Le protocole qui a été utilisé est basé sur la méthode décrite par **(Singleton et Ross, 1965)** avec quelques modifications :

- 200µl de chaque solution de la gamme d'étalonnage.
- 01ml du réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois.
- 800µl de la solution de carbonate de sodium (7,5 %).

Les tubes ont été agités et incubés pendant 30 min. L'absorbance a été déterminée par le spectrophotomètre UV-Visible (UV-1601, SHIMADZU) à 765nm.

3.2.2 Dosage des extraits :

Le même protocole a été réalisé pour 200µl de chaque extrait.

4. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes est déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode de trichlorure d'aluminium. **(Negreche et Benattia, 2019)**

4.1 Principe :

La formation d'un complexe jaune qui absorbe à 340nm, lors de l'ajout du trichlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Negreche et Benattia, 2019).

4.2 Protocole :

4.2.1 Préparation de la solution mère de quercétine :

- 0.006g de quercétine.
- 50ml d'eau distillée.

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir de cette solution avec différentes concentrations (0-0,12 mg/ml).

Le protocole qui a été utilisé est basé sur la méthode décrite par (Kim et al, 2004) avec quelques modifications.

- 400 μ l de chaque solution de la gamme d'étalonnage.
- 120 μ l de $NaNO_2$ (05%) avec incubation pendant cinq minutes.
- 120 μ l d' $AlCl_3$ (10 %) ont été additionnés et le milieu a été mélangé vigoureusement.
- Après 06 minutes, un volume de 800 μ l de $NaOH$ (1M) a été ajouté au milieu réactionnel.

L'absorbance a été déterminée par le spectrophotomètre UV-Visible (UV-1601, SHIMADZU) à 510nm.

4.2.2 Dosage des extraits :

Le même protocole a été réalisé pour 400 μ l de chaque extrait.

III. Etude qualitative :

1. Extraction solide/liquide (Macération à froid) :

Cette extraction a été effectuée par macération à froid de 10g de poudre des feuilles de chaque espèce bien broyée dans 500ml du solvant hydroalcoolique éthanol/eau (80 :20) avec agitation pendant 24h.

Après 24h les extraits ont été filtrés et évaporés sous vide dans l'évaporateur rotatif pour éliminer le solvant et concentrer les extraits à sec. Les deux extraits riches en molécules bioactives récupérés ont été dilués par 100ml d'eau distillé.

2. Chromatographie de partage (Partition entre solvants):

Cette opération a été effectuée par des solvants à polarité croissante à l'aide d'une ampoule à décanter.

2.1 Principe :

- **Affrontement par éther de pétrole** : permet de l'élimination des pigments chlorophylliens et caroténoïdes, les lipides et tous composés non phénoliques.
- **Affrontement par éther diéthylique** : solvant utilisé pour solubiliser les composés phénoliques simples: phénols simples et acides phénols, dérivés et les molécules élémentaires des flavonoïdes.
- **Affrontement par acétate d'éthyle** : les flavonoïdes et les proanthocyanidines dimères et trimères sont solubilisés dans cette phase.
- **Affrontement par méthyle éthyle cétone** : entrainement de reste des composés phénoliques.

2.2 Méthode :

- **Affrontement par éther de pétrole** : Les solutions aqueuses limpides ont été ajoutées au 100ml d'éther de pétrole, agitées énergiquement et laissées reposer jusqu'à la formation de deux phases : la phase éther de pétrole (phase supérieure) est éliminée et la phase eau (phase inférieure) est récupérée dans un bécher.
- **Affrontement par éther diéthylique** : La phase eau a été ajoutée au 100ml d'éther diéthylique, les deux solutions sont mélangées énergiquement et laissées reposer jusqu'à la formation de deux phases : la phase éther diéthylique (phase supérieure) est récupérée, évaporée à l'air libre et la phase eau (phase inférieure) est récupérée dans un bécher.
- **Affrontement par acétate d'éthyle** : La phase eau a été ajoutée pour une deuxième extraction au 100ml d'acétate d'éthyle, les deux solutions sont mélangées énergiquement et laissé reposer jusqu'à la formation de deux phases : la phase acétate d'éthyle (phase supérieure) est récupérée, évaporée sous vide dans l'évaporateur rotatif et la phase eau (phase inférieure) est récupérée dans un bécher.
- **Affrontement par méthyle éthyle cétone** : La phase eau a été soumise à une dernière extraction par 100ml de MEC, agitée énergiquement et laissée reposer jusqu'à la formation

Matériel et méthodes

de deux phases : la phase supérieure (phase MEC) est évaporée à sec sous vide dans l'évaporateur rotatif et la phase eau est récupérée dans un bécher.

La phase éther de pétrole ne contient pas des composés phénoliques, donc elle a été rejetée, la phase éther diéthylique a été évaporée à l'air libre, les phases acétate d'éthyle, MEC et eau ont été évaporées sous vide à l'évaporateur rotatif à sec, puis les extraits ont été récupérés par 05ml du méthanol. (Merghem et al, 1995)

Matériel et méthodes

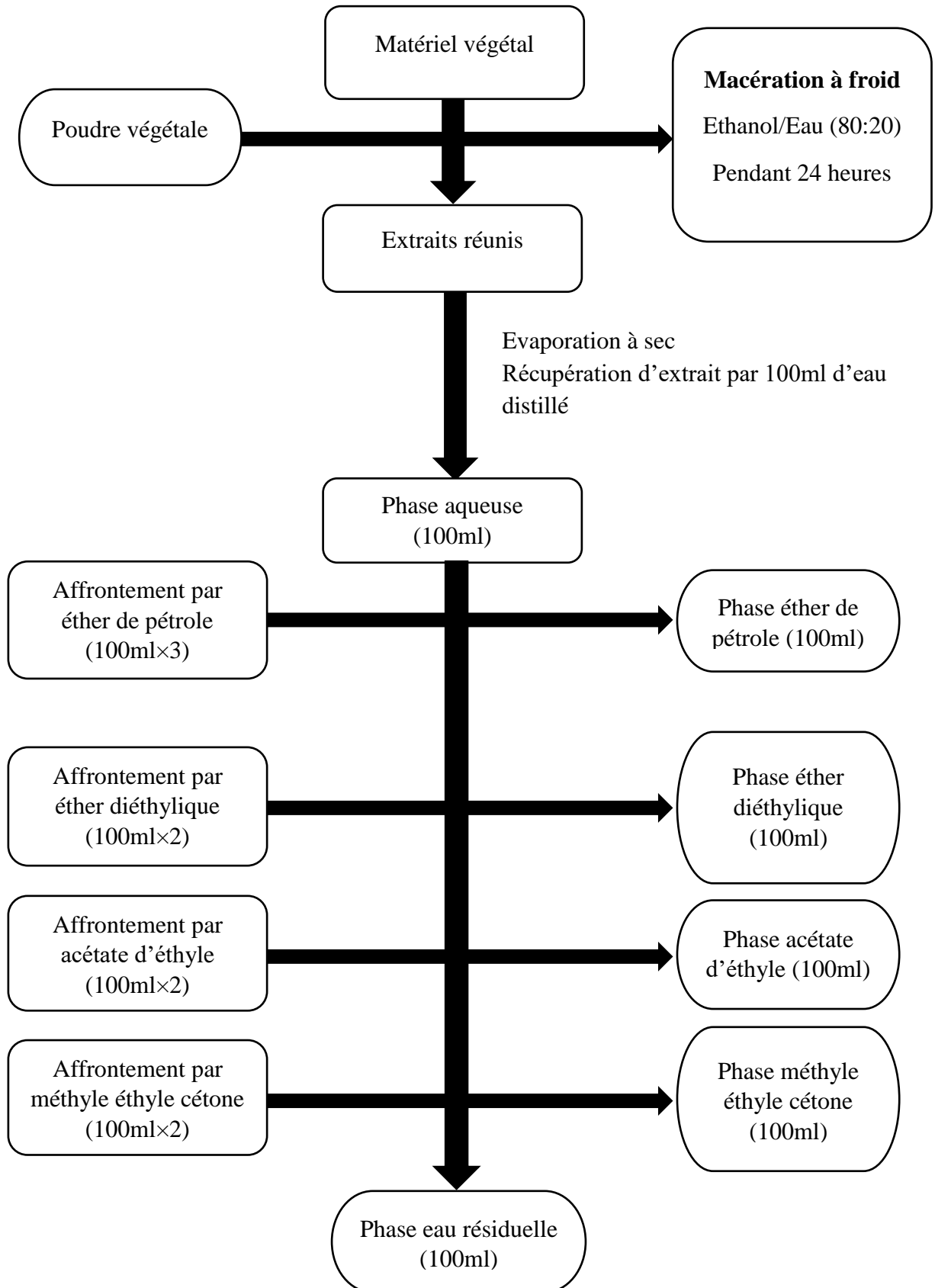


Figure 8: Protocole d'extraction des composés phénoliques (Merghem et al, 1995)

3. Dosage des composés phénoliques : (Le même protocole utilisé dans l'étude quantitative).

4. Dosage des flavonoïdes : (Le même protocole utilisé dans l'étude quantitative).

5. Diagnostic CCM :

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique permet la séparation et l'identification des différentes molécules présentes dans les extraits, selon le phénomène d'adsorption.

5.1 Principe :

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

- La phase mobile : éluant constitué par un solvant unique ou un mélange des solvants.
- La phase stationnaire : adsorbant maintenu sur la plaque en verre.

5.2 Protocole :

5.2.1 Préparation de la phase stationnaire :

La phase stationnaire est constituée par le gel de polyamide qui a été préparé par la solubilisation de 10g de polyamide DC6 dans 55ml d'éthanol et qui a été étalé sur des plaques en verre (10x20cm) bien dégraissées par le méthanol et placées l'une à côté de l'autre sur le support chromatographique. Après le séchage, les plaques seront prêtes à l'utilisation.

5.2.2 Préparation de la phase mobile :

La phase mobile est constituée par un mélange des solvants organiques. Ils existent plusieurs systèmes solvants pour le diagnostic CCM.

Pour notre diagnostic, plusieurs systèmes ont été essayés pour trouver le système qui donne la meilleure séparation.

- Les systèmes qui ont été essayés :

Toluène /méthanol/méthyle éthyle cétone/éther du pétrole (40/25/25/10).

Toluène/méthyl éthyle cétone/éthanol/éther du pétrole (40/25/25/07).

Méthanol/ toluène /éthanol (40/30/30).

Matériel et méthodes

- Le système qui a été choisi :

Méthanol/ toluène /éthanol (40/30/30).

5.2.3 Dépôts :

Les dépôts se fait avec des tiges en verre d'une façon perpendiculaire et linéaire. Chaque phase a été diluée dans l'éthanol. Plusieurs dépôts successifs du même extrait en même endroit ont été effectués afin de concentrer les dépôts.

5.2.4 Visualisation des plaques :

Les taches ont été visualisées après la migration et le séchage des taches appariées :

- A l'œil nue.
- Sous la lampe UV à 365nm.
- A l'œil nue après révélation par un réactif spécifique.
- Sous la lampe UV à 365nm après révélation par un réactif spécifique.

5.2.5 Identification :

Il existe plusieurs méthodes d'identification des composés phénoliques notamment les flavonoïdes, parmi ces méthodes :

- **Facteur de rétention (Rf) :**

Le rapport frontal ou bien facteur de rétention peut donner des informations sur la structure des composés flavoniques séparés (Madaci et al, 2020), il est calculé d'après la relation suivante :

$$R_f = \text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le front de solvant}$$

Matériel et méthodes

Tableau 4: Relation Rf-Structure des flavonoïdes (Akroum, 2011)

Structure flavonique	Rf
Augmentation des OH	Diminution du Rf dans un solvant lipophile
Glycosylation	Rf augmente dans un solvant aqueux Rf diminue dans un solvant alcoolique
Hydroxyles méthylés	Rf augmente dans un solvant alcoolique
Méthylation d'un OH en C5	Rf diminue dans un solvant alcoolique
Hétérosides de flavones avec 3- OH libre	Rf nul dans l'eau

- **Relation fluorescence-structure :**

L'examen en lumière ultraviolet est la méthode la plus utilisée pour la détermination des structures des flavonoïdes. (Lahouel, 2005)

Tableau 5: Relation fluorescence-structure sous UV des flavonoïdes (Markham, 1982, Lahouel, 2005)

Spot coloré	Type des flavonoïdes
Noir, Marron	Flavonols 5, 6, 7 tris-OH libres Flavonols 5, 7, 8 tris-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 ou Flavonols 5 –OH avec 4'–OH absent ou substitué en 3. Flavones 6 –ou 8 –OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavonols, flavanones
Bleu- clair (fluorescent)	Flavones sans 5 –OH libres. Flavones sans 5 –OH libres avec 3 –OH substitué
Jaune terne, jaune, fluorescence orangé	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 –OH substitué

Matériel et méthodes

Jaune vert brillant	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 – OH substitué
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre
Jaune pâle	Dihydroflavonols
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 di glucoside

6. Spectrophotométrie UV-Visible :

C'est une technique qui permet de compléter les informations apportées par le diagnostic chromatographique et la fluorescence des produits à identifier.

L'action des flavonoïdes dans les plantes résulte en partie de leur effet filtre et de leur forte absorption dans le domaine UV. La plupart des flavones et flavonols possèdent deux bandes d'absorption dans la région ultraviolette visible:

- La bande I : entre 230 et 385nm, correspond à l'absorption du système cinnamoyle qui fait intervenir la conjugaison du groupement CO de l'hétérocycle central avec le noyau B.
- La bande II : entre 240 et 280nm, associée à l'absorption du système benzoyle du noyau A, cette bande permet de connaître le nombre de substituant du noyau A.

(Lahouel et al. 2004)

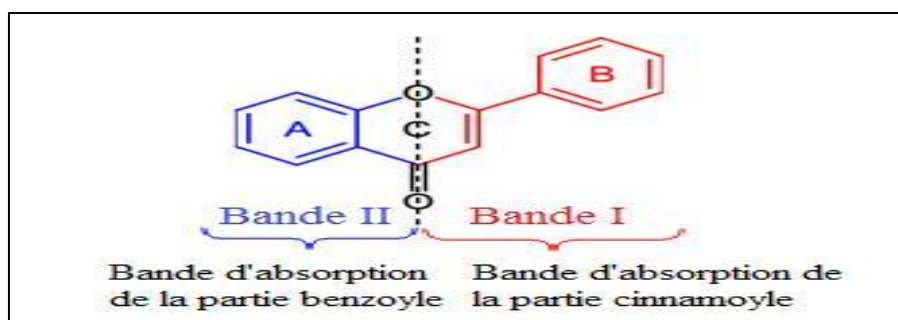


Figure 9: Les deux bandes d'absorption des flavonoïdes (Saffidine, 2015)

Matériel et méthodes

Tableau 6: Principales caractéristiques des spectres UV-visible des classes flavoniques (Markham et Chari, 1982)

Bande II (nm)	Bande I (nm)	Types de flavonoïdes
250 – 280	310 – 350	Flavones
250 – 280	330 – 360	Flavonols substitués en 3-OH
250 – 280	350 – 385	Flavonols
245 – 275	310 – 330 (épaulement pic à 320)	Isoflavones Isoflavones (5-désoxy-6,7 dioxygènes)
275 – 295	300 – 330 (épaulement)	Flavones et dihydroflavonols)
230– 270 (faible intensité)	340 – 390	Chalcones
230 – 270	380 – 430	Aurone
270 – 280	465 – 560	Anthocyanes

L'analyse des phases éther d'éthylque, acétate d'éthyle, MEC et la phase eau des deux espèces étudiées a été effectuée par le spectrophotomètre UV-visible (UV 1601, SHIMADZU). L'acide gallique et la quercétine ont été utilisés comme standards.

IV. Evaluation du pouvoir antioxydant :

Afin d'évaluer l'activité antioxydante, les extraits ont été testés par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (diphényl-picryl hydroxyle).

1. Principe du test DPPH :

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre relativement stable de couleur violette intense en solution, qui absorbe dans l'intervalle de 512 à 517nm, lorsque ce radical est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé qui a la propriété antiradiculaire cette coloration devient jaune dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Cette réduction est mesurée par spectrométrie UV- Visible, en suivant la diminution de l'absorbance. (Hara et al, 2018)

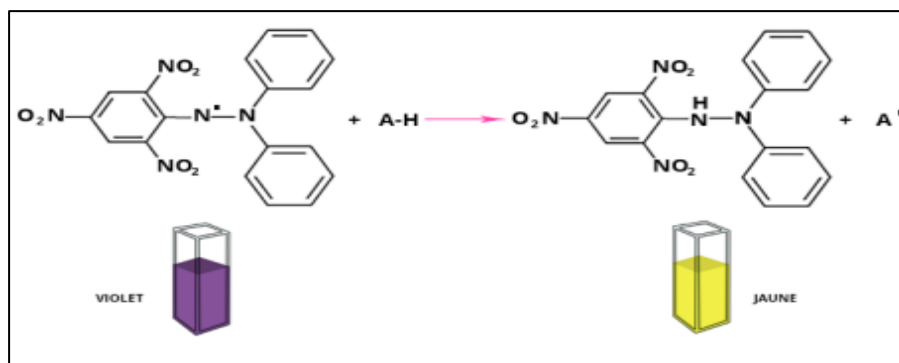


Figure 10: Réaction du radical stable DPPH avec un composé antiradicalaire (Hara et al, 2018)

2. Protocole :

2.1 préparation de la solution mère du DPPH :

La solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0.02g de DPPH dans 100ml d'éthanol, suivi par une incubation à l'obscurité pendant 2h. (Zeghad et Merghem, 2013)

2.2 Test DPPH des extraits :

- 100µl de chaque extrait a été ajoutée au 03ml de solution de DPPH préparée dans l'éthanol.
 - Un contrôle a été préparé avec la même solution de DPPH et l'eau distillée.
- L'absorbance a été mesurée par le spectrophotomètre UV-visible (UV-1601) après 30 min d'incubation à température ambiante à 517nm.

2.3 Pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition du DPPH est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire\%} = \left[\frac{(\text{Ab contrôle} - \text{Ab échantillon})}{\text{Ab contrôle}} \right] \times 100$$

Ab contrôle: Absorbance du blanc, Ab échantillon: Absorbance de l'échantillon.

Partie III

Résultats et

interprétations

Résultats et interprétations

I. Etude quantitative :

Afin de déterminer la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes ; nos extraits issus des feuilles de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* ont été étudiés quantitativement par spectrophotométrie.

1. La teneur en composés phénoliques :

La teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Une coloration bleue a été obtenue, l'intensité de cette coloration varie en fonction de la concentration en composés phénoliques. À partir de la gamme d'étalonnage d'acide gallique, la concentration des composés phénoliques dans les extraits étudiés a été estimée par l'équation $y = 4,6352x + 0,109$ (x : concentration d'acide gallique, y : absorbance) et exprimée en mg équivalent de l'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg Eq AG/g) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9749$.

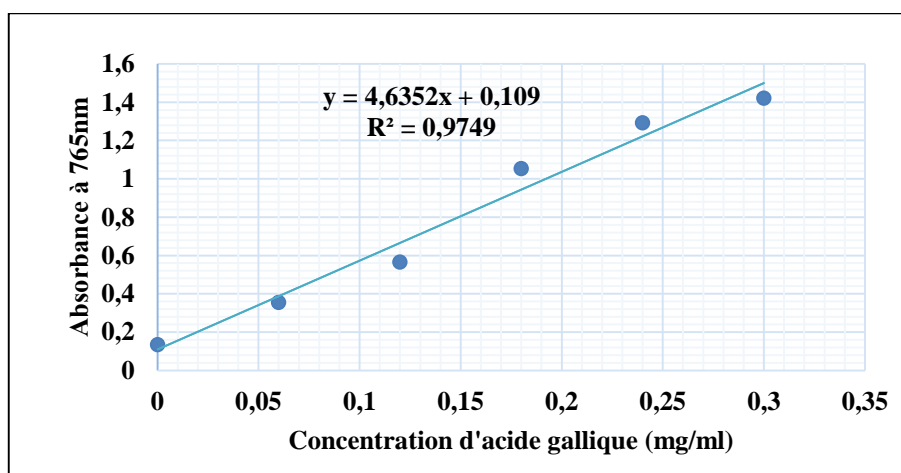


Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique

- La teneur des extraits en composés phénoliques:

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant :

Résultats et interprétations

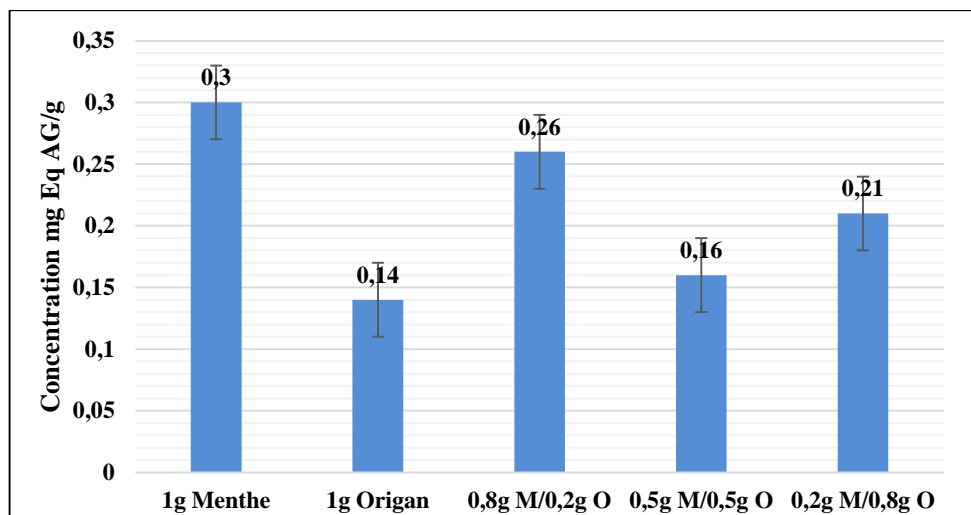


Figure 12: Teneur des extraits en composés phénoliques

D'après la comparaison des résultats :

La teneur en composés phénoliques dans l'extrait brut de *Mentha pipérита* est supérieure à celle d'*Origanum vulgare*.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait riche en *Mentha pipérита* est plus élevée que celle de l'extrait riche en *Origanum vulgare*.

Donc l'espèce *Mentha pipérита* est plus riche en composés phénoliques par rapport à l'espèce *Origanum vulgare*.

$$Mentha\ pipérита > Origanum\ vulgare$$

Résultats et interprétations

2. La teneur en flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes a été estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃). À partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine, la concentration des flavonoïdes dans les extraits étudiés a été estimée par l'équation $y = 3,781x + 0,2115$ (x : concentration de la quercétine, y : absorbance) et exprimée en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg Eq Q/g) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9904$.

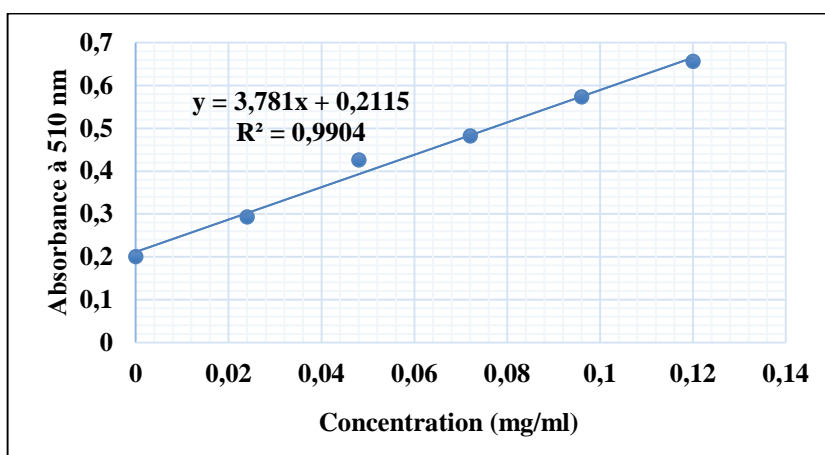


Figure 13: Courbe d'étalonnage de la quercétine

- La teneur des extraits en flavonoïdes:

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant :

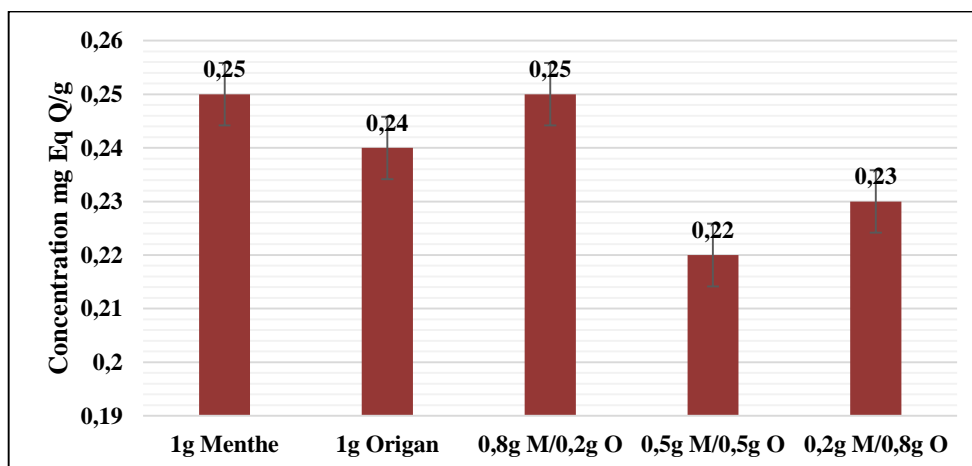


Figure 14: Teneur des extraits en flavonoïdes

Résultats et interprétations

Ces résultats montrent que les teneurs en flavonoïdes des tous les extraits sont proches, donc la composition des deux espèces en flavonoïdes est presque égale.

Mentha pipérta = Origanum vulgare

II. Etude qualitative:

1. La teneur en composés phénoliques:

Les teneurs en composés phénoliques ont été calculées en utilisant l'équation ($y=4,6352x+0,109$) et la courbe d'étalonnage d'acide gallique obtenue par l'étude quantitative.

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant:

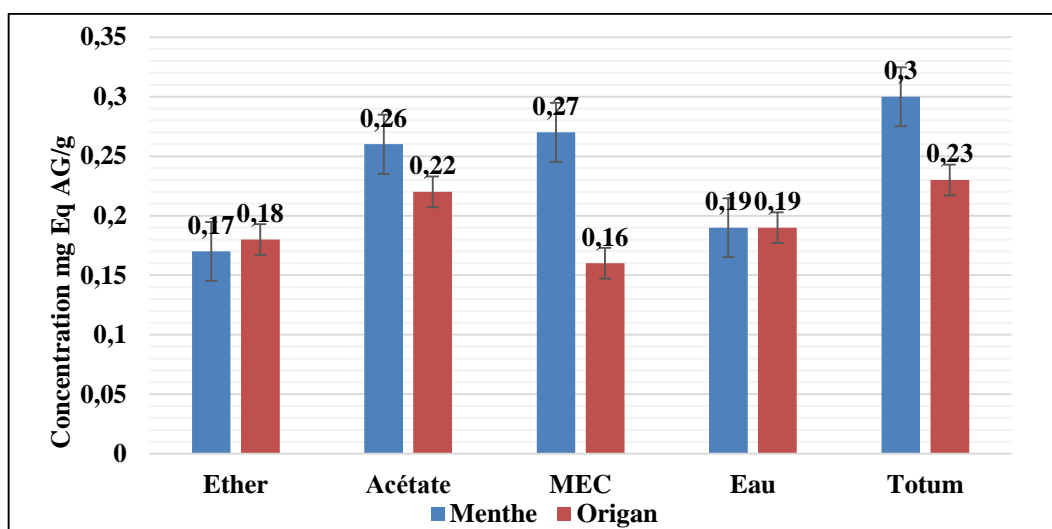


Figure 15: Teneur des phases et du totum de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* en composés phénoliques

D'après ces résultats :

La teneur en composés phénoliques des espèces varie d'une phase à l'autre :

Les phases acétate d'éthyle et MEC de *Mentha pipérta* sont plus riches en composés phénoliques que les phases éther diéthylique et eau.

MEC > Acétate d'éthyle > Eau > Ether diéthylique

Les phases acétate d'éthyle et eau d'*Origanum vulgare* sont plus riches en composés phénoliques que les phases éther diéthylique et MEC.

Acétate d'éthyle > Eau > Ether diéthylique > MEC

Résultats et interprétations

La teneur des phases acétate d'éthyle, MEC de *Mentha pipérита* en composés phénoliques est plus élevée que celle d'*Origanum vulgare*, en revanche la teneur de la phase éther diéthylique d'*Origanum vulgare* est plus élevée que celle de *Mentha pipérита*, et la phase eau des deux espèces est possède la même teneur en ces composés.

La teneur en composés phénoliques du totum de *Mentha pipérита* est supérieure à celle d'*Origanum vulgare*.

Mentha pipérита > *Origanum vulgare*

2. La teneur en flavonoïdes:

Les teneurs en flavonoïdes ont été calculées en utilisant l'équation ($y=3.781x+0.2115$) et la courbe d'étalonnage de la quercétine obtenue par l'étude quantitative.

Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant:

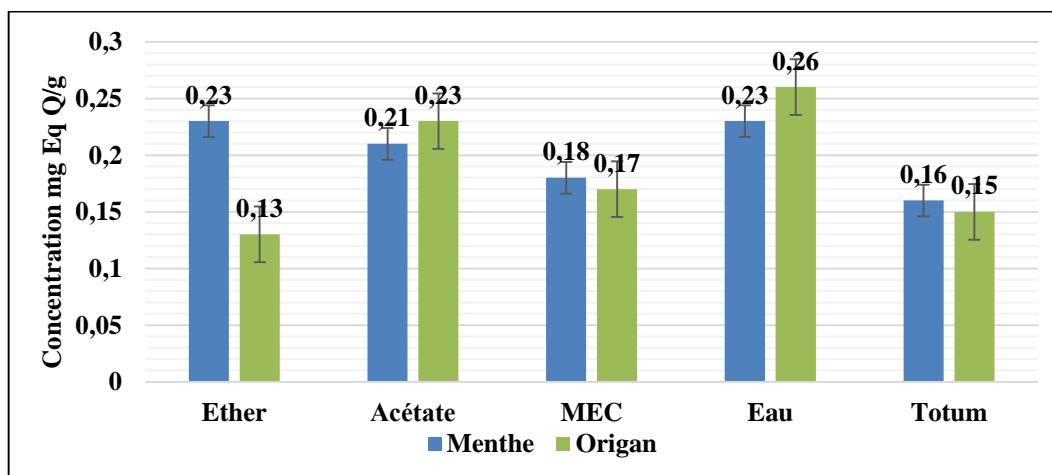


Figure 16: Teneur des phases et du totum de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare* en flavonoïdes

D'après ces résultats :

La teneur en flavonoïdes des espèces varie d'une phase à l'autre :

Les phases éther diéthylique et eau de *Mentha pipérита* sont plus riches en flavonoïdes par rapport à les phases acétate d'éthyle et MEC.

Ether diéthylique, Eau > Acétate d'éthyle > MEC

Les phases eau et acétate d'éthyle d'*Origanum vulgare* sont plus riches en flavonoïdes par rapport à les phases MEC et éther diéthylique.

Résultats et interprétations

Eau > Acétate d'éthyle > MEC > Ether diéthylique

La teneur des phases éther diéthylique et MEC de *Mentha pipérита* en flavonoïdes est plus élevée que celle d'*Origanum vulgare*. Par contre la phase acétate d'éthyle et eau d'*Origanum vulgare* a une teneur plus élevée que celle de *Mentha pipérита*.

La teneur en flavonoïdes du totum de *Mentha pipérита* est presque égale à la teneur d'*Origanum vulgare*.

Mentha pipérита = *Origanum vulgare*

La concentration de *Mentha pipérита* en composés phénoliques 0.3 mg/ml est plus élevée que la concentration en flavonoïdes 0.16 mg/ml. Cette comparaison est proche de celle obtenue par **(Olennikov et Tankhaeva, 2010)**

La concentration d'*Origanum vulgare* en composés phénoliques 0.23 mg/ml est plus élevée que la concentration en flavonoïdes 0.15 mg/ml. Ce résultat est plus proche de celui atteint par **(Oniga et al, 2018)**

- **Interprétation des résultats :**

La teneur en composés phénoliques des extraits hydroalcooliques des plantes dépend essentiellement de leur origine, certains facteurs intrinsèques (la génétique), extrinsèques (conditions climatiques, maturité et à la récolte), aux différentes maladies qui peuvent affecter la plante **(Zeghad, 2009)**

Ainsi la maturité de la plante et le choix du système solvant d'extraction sont très importants dans l'estimation des teneurs en composés phénoliques. **(Tirichine, 2010)**

Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique donnent des informations directes sur la quantité des groupes phénoliques antioxydants de l'extrait et dépendent essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers. **(Balasunderam et al, 2006)**

3. Diagnostique CCM:

Cette technique permet la visualisation des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes présents dans les extraits sous forme des spots flavoniques.

Résultats et interprétations

3.1. Visualisation des plaques:

Après le séchage des chromatogrammes à l'air libre, ils ont été examinés :

A : A l'œil nue.

B : Sous UV à 365 nm.

C : A l'œil nue après pulvérisation par un réactif spécifique.

D : Sous UV après pulvérisation par un réactif spécifique.

Résultats et interprétations

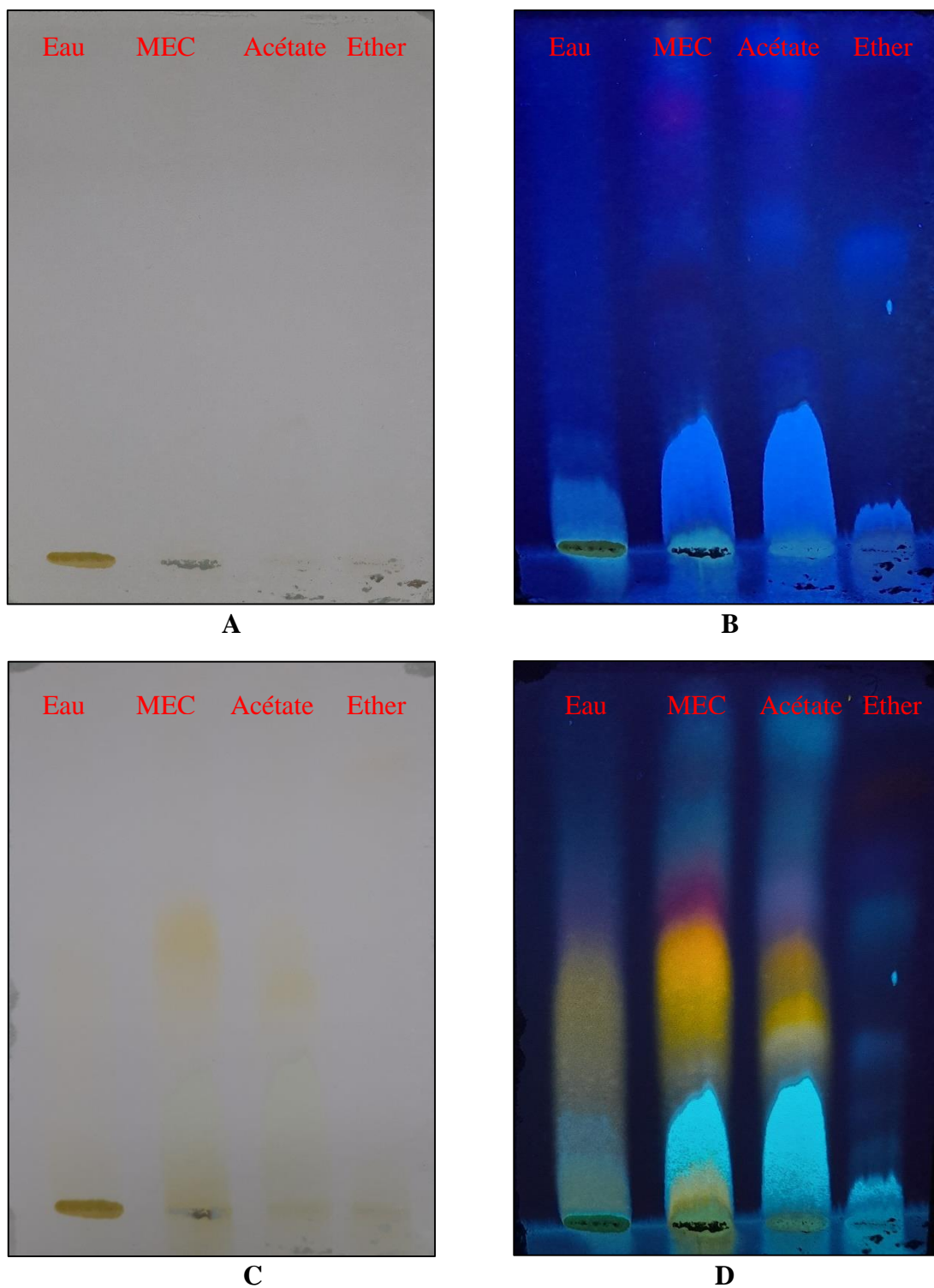


Figure 17: CCM analytique des flavonoïdes des quatre phases de *Mentha pipérta* sur la plaque de polyamide DC6 développée dans le système solvant (Méthanol, toluène, éthanol : 40/30/30). A: A l'œil nu, B: Sous UV à 365 nm, C: A l'œil nu après pulvérisation par un réactif spécifique, D: Sous UV après pulvérisation par un réactif spécifique

Résultats et interprétations

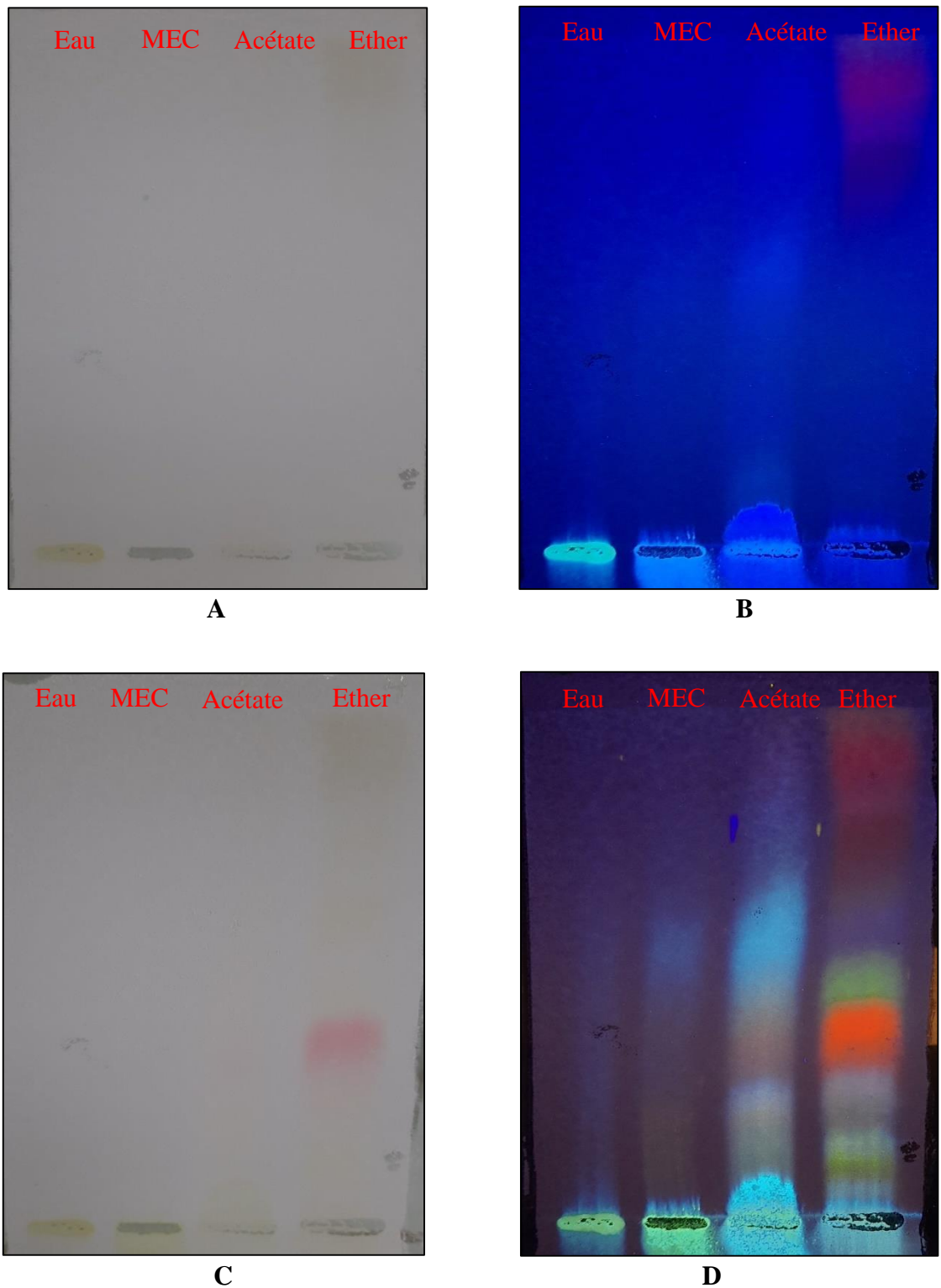


Figure 18: CCM analytique des flavonoïdes des quatre phases d'*Origanum vulgare* sur la plaque de polyamide DC6 développée dans le système solvant (Méthanol, toluène, éthanol : 40/30/30). A: A l'œil nue, B: Sous UV à 365 nm, C: A l'œil nu après pulvérisation par un réactif spécifique, D: Sous UV après pulvérisation par un réactif spécifique

Résultats et interprétations

Après la migration et le séchage des plaques, les chromatogrammes ont été visualisés sous UV à 365nm car l'observation à l'œil nue n'est pas suffisante. Pour compléter le diagnostic un réactif spécifique de visualisation des flavonoïdes a été utilisé et les chromatogrammes ont été encore visualisés sous UV.

- ***Mentha pipérta*** :

Avant la pulvérisation par le réactif spécifique, des taches bleues sont apparues sous UV dans toutes les phases et surtout dans les deux phases acétate d'éthyle et MEC.

Après la pulvérisation, des taches jaunes sont apparues dans les phases acétate d'éthyle, MEC et eau après la visualisation à l'œil nue. Sous UV, des taches bleues sont observées dans la phase éther diéthylique, des taches jaunes et bleues dans les phases acétate d'éthyle, eau et MEC avec l'apparition d'une tache rouge dans cette dernière phase et des taches oranges dans les deux phase acétate d'éthyle et MEC.

- ***Origanum vulgare*** :

Avant la pulvérisation par le réactif spécifique, des taches bleues sont apparues sous UV dans la phase acétate d'éthyle et la phase éther diéthylique avec l'apparition d'une tache rouge dans cette dernière phase.

Après la pulvérisation, une seule tache rouge est apparue dans la phase éther diéthylique après la visualisation à l'œil nue. Sous UV, deux taches vertes et une seule tache orange, bleue, marron et rouge sont visualisés dans la phase éther diéthylique, une tache jaune et autre bleue dans la phase acétate d'éthyle et une tache bleue dans la phase MEC.

D'après (**Mamyrbekova-Bekro et al, 2012**), l'apparition des spots jaunes, oranges et rouges après la pulvérisation chimique et visualisation sous UV confirme la présence des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes dans les extraits des plantes.

Résultats et interprétations

3.2. Identification des molécules:

Tableau 7: Comportement chromatographique des phases de *Mentha pipérита*.

<i>Mentha pipérита</i>			
Phase	couleur	Rf	Type de flavonoïde
Ether diéthilyque	Bleu fluorescent	0.05	Flavone
Acétate d'éthyle	Bleu fluorescent	0.22	Flavone
	Jaune	0.39	Flavonol
	Orange	0.49	Flavonol
	Bleu	0.91	Flavone
MEC	Jaune	0.08	Flavonol
	Bleu fluorescent	0.21	Flavone
	Orange	0.51	Flavonol
	Rouge	0.61	Anthocyanidine
	Bleu	0.74	Flavone
Eau	Bleu	0.16	Flavone
	Jaune	0.48	Flavonol

Tableau 8: Comportement chromatographique des phases d'*Origanum vulgare*

<i>Origanum vulgare</i>			
Phase	Couleur	RF	Type de flavonoïdes
Ether diéthilyque	Bleu fluorescent	0.03	Flavone
	Vert	0.1	/
	Orange	0.37	Flavonol
	Vert	0.46	/
	Marron	0.74	Flavonol
	rouge	0.94	Anthocyanidine

Résultats et interprétations

Acétate d'éthyle	Bleu fluorescent	0.62	Flavone
MEC	Bleu	0.54	Flavone

D'après les tableaux présentant le comportement chromatographique des phases, il existe une variation en flavonoïdes entre les phases de la même plante.

L'identification des molécules confirme la présence des flavonoïdes dans les feuilles des espèces étudiées. Les phases de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* sont très riches en flavonoïdes notamment en flavonols et en flavones, avec peu d'anthocyanidine.

La différenciation des (Rf) est due à la phase stationnaire, la polarité des composés vis-à-vis le système solvant utilisé et le comportement des squelettes moléculaires; les molécules méthylées ont un (Rf) plus fort que celle des molécules glycosylées.

3.3 Comparaison des phases de *Mentha pipérита* et *Origanum vulgare* :

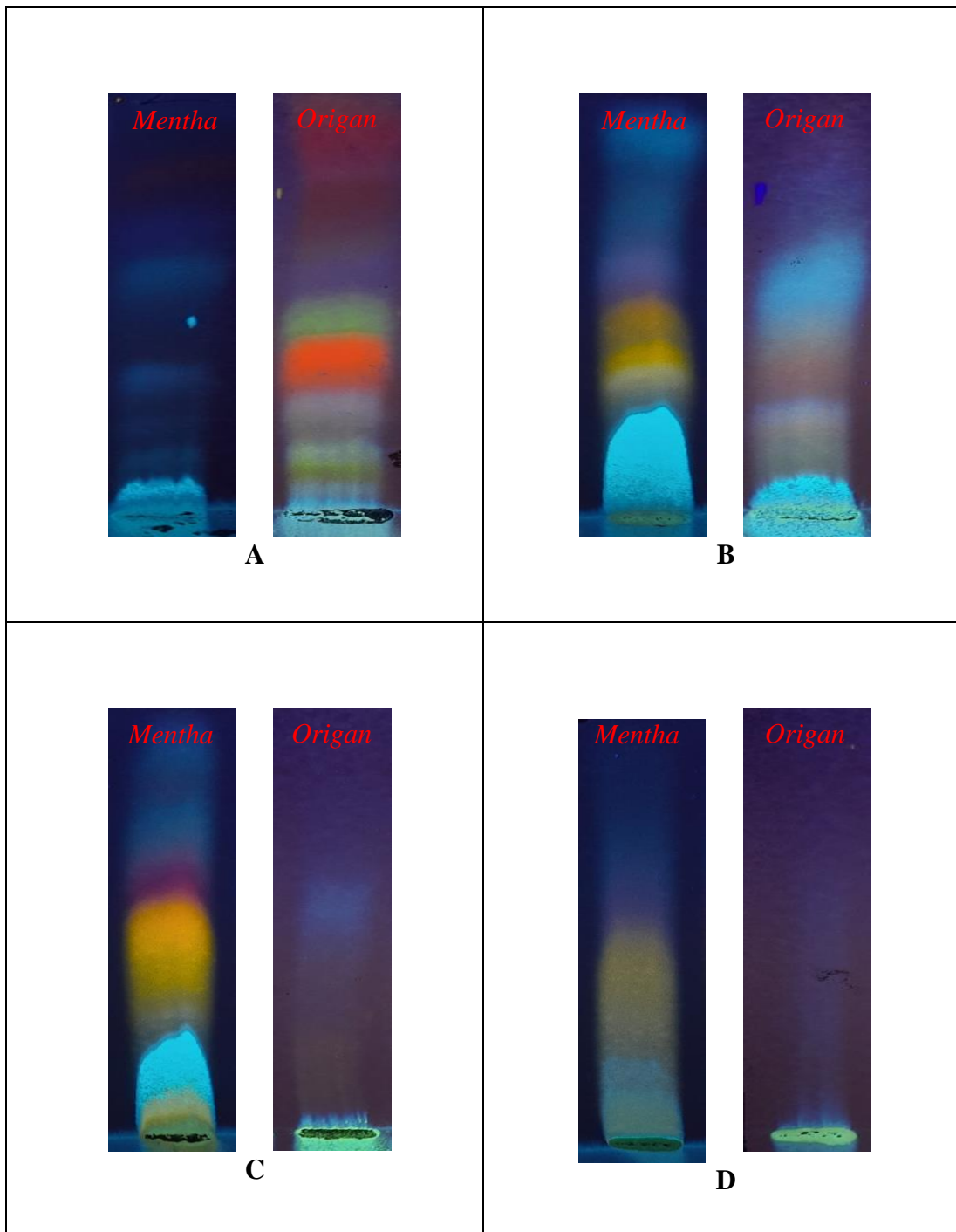


Figure 19: Comparaison des phases, A: Ether diéthylique, B: Acétate d'éthyle, C: MEC, D: Eau de *Mentha pipérита* et *Origanum vulgare*

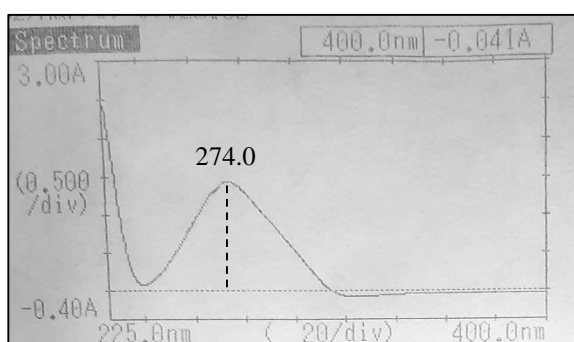
Résultats et interprétations

D'après la comparaison des phases:

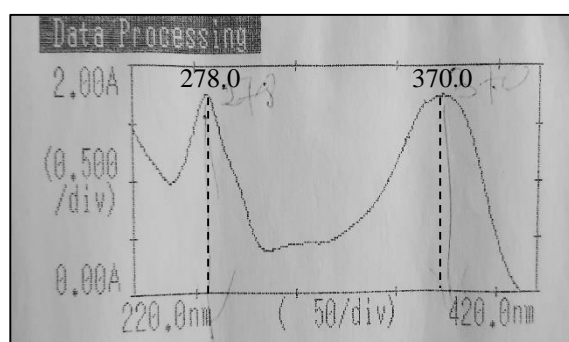
- La phase éther diéthylique: dans cette phase la composition d'*origanum vulgare* en flavonoïdes est plus riche de celle de *Mentha pipérита*.
- Les phases acétate d'éthyle, MEC et eau: dans ces phases la composition de *Mentha pipérита* en flavonoïdes est plus riche de celle d'*origanum vulgare*.

4. Spectrophotométrie UV-Visible :

- **Analyse du standard :**



A



B

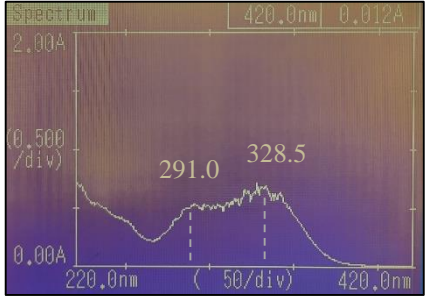
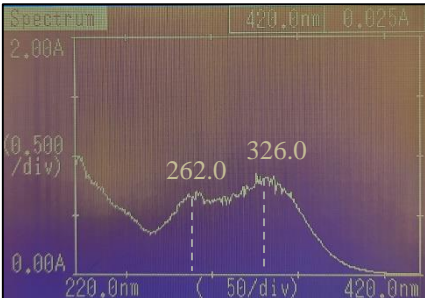
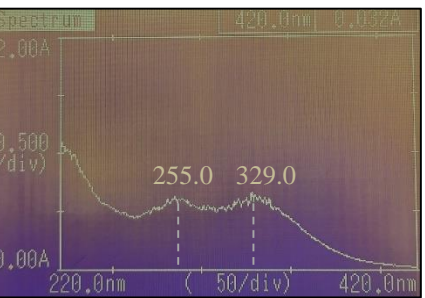
Figure 20: Spectre UV-visible de A: acide gallique, B: quercétine

- **Analyse des phases de *Mentha pipérита* :**

Tableau 9: Spectres d'absorption des phases de *Mentha pipérита*.

Phase	λ max de la bande II	λ max de la bande I	Composés possibles
Ether diéthylique	260.0	333.0	Flavones Flavonols (3-OH substitué)

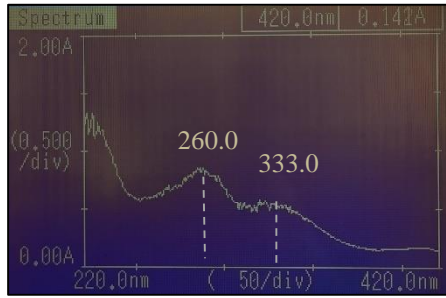
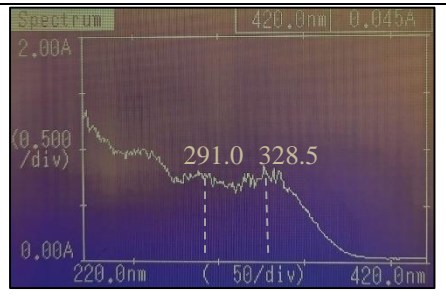
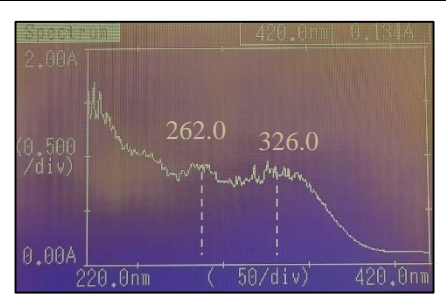
Résultats et interprétations

Acétate d'éthyle		291.0	328.5	Flavanones et Dihydroflavonols
MEC		262.0	326.0	Flavones Isoflavones Isoflavones (5-desoxy-6.7-désoxygéné)
Eau		255.0	329.0	Flavones Isoflavones Isoflavones (5-desoxy-6.7-désoxygéné)

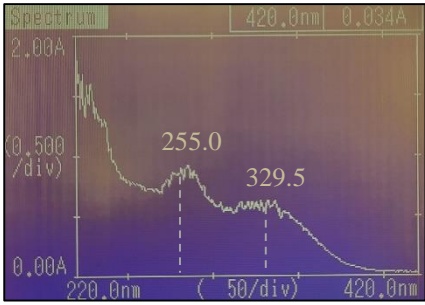
Résultats et interprétations

- Les phases d'*Origanum vulgare* :

Tableau 10: Spectres d'absorption des phases d'*Origanum vulgare*.

Phase		λ max de la bande II	λ max de la bande I	Composés possibles
Ether diéthylique		260.0	333.0	Flavones Flavonols (3-OH substitué)
Acétate d'éthyle		291.0	328.5	Flavanones et Dihydroflavonols
MEC		262.0	326.0	Flavones Isoflavones Isoflavones (5- desoxy-6,7- désoxygéné)

Résultats et interprétations

Eau	 <p>The figure is a UV-Vis spectrum plot. The x-axis represents wavelength in nanometers (nm), ranging from 220.0 to 420.0. The y-axis represents absorbance, with a scale of 0.500 per division. Two prominent absorption peaks are identified and labeled with their respective wavelengths: 255.0 nm and 329.5 nm. The plot also shows a scale of 50 nm per division on the x-axis and a current of 0.034 A.</p>	255.0	329.5	Flavones Isoflavones Isoflavones (5-desoxy-6.7-désoxygéné)
-----	--	-------	-------	--

III. Evaluation du pouvoir antioxydant:

La méthode chimique de piégeage du radical libre DPPH a été choisie pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits étudiés.

1. Etude quantitative:

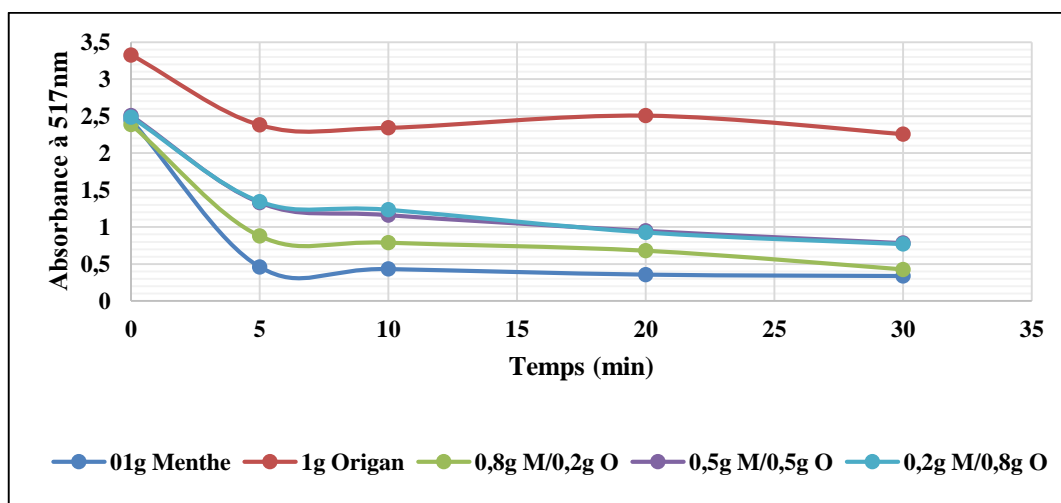


Figure 21: Cinétique de réduction du DPPH par les extraits

Résultats et interprétations

- Pourcentage d'inhibition :

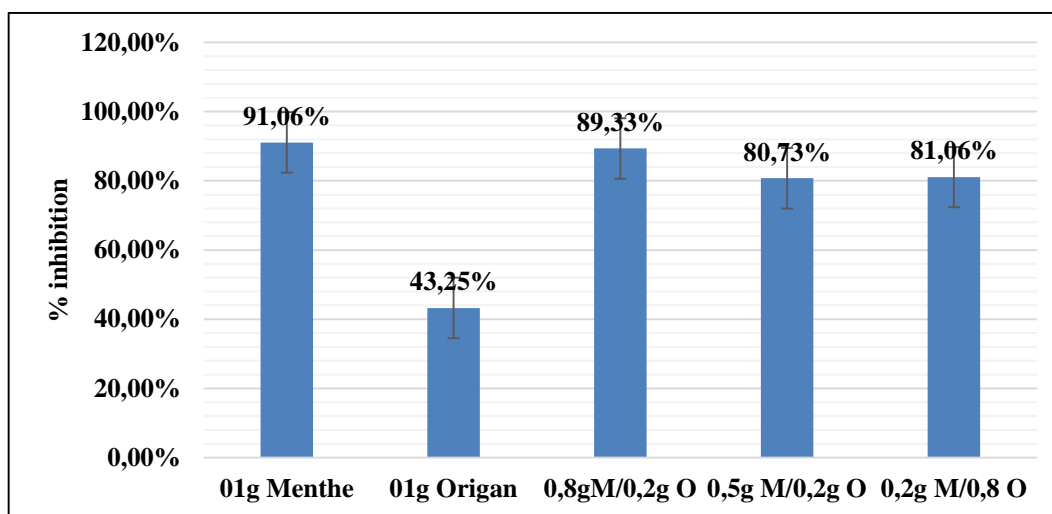


Figure 22: Histogramme du pourcentage d'inhibition des extraits

D'après les résultats de la cinétique de réduction et l'histogramme de pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait brut de *Mentha pipérита* et des extraits riches en cette espèce est plus supérieur que celle de l'extrait brut et des extraits riche en *Origanum vulgare*.

01g Menthe > 0,8g M/0,2g O > 0,5g M/0,5g O > 0,2g M/0,8g O > 01g Origan

Ces résultats sont proches aux résultats obtenus par le dosage des extraits qui montre la richesse de *Mentha pipérита* en composés phénoliques responsables à la forte capacité antioxydante contrairement à l'*Origanum vulgare* qui donne une faible capacité.

Résultats et interprétations

2. Etude qualitative:

- *Mentha pipérита* :

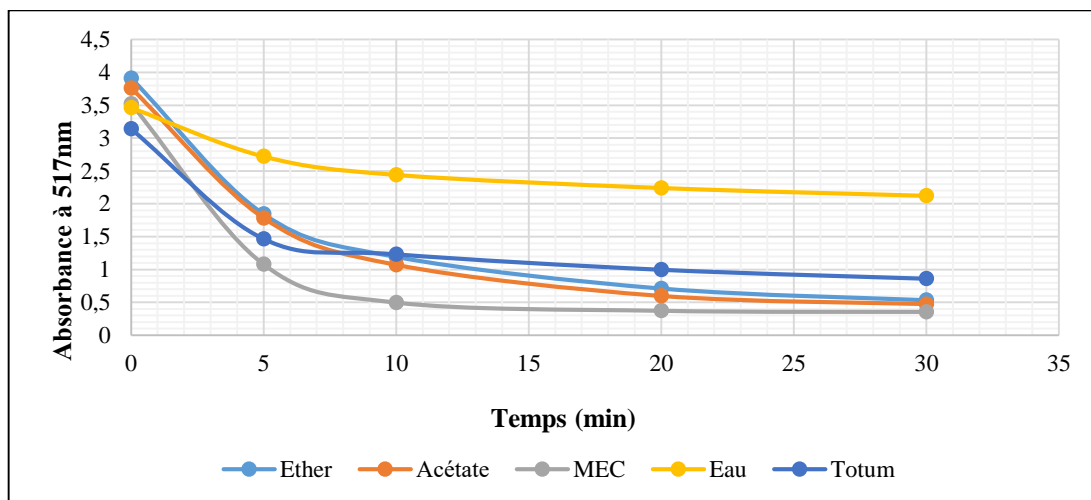


Figure 23: Cinétique de réduction du DPPH par les phases et le totum de *Mentha pipérита*

Le profil cinétique de la réduction DPPH des phases de *Mentha pipérита* montre que :

La phase MEC a un pouvoir antiradicalaire plus élevé suivie par la phase acétate d'éthyle, éther diétylique et enfin la phase eau.

- *Origanum vulgare* :

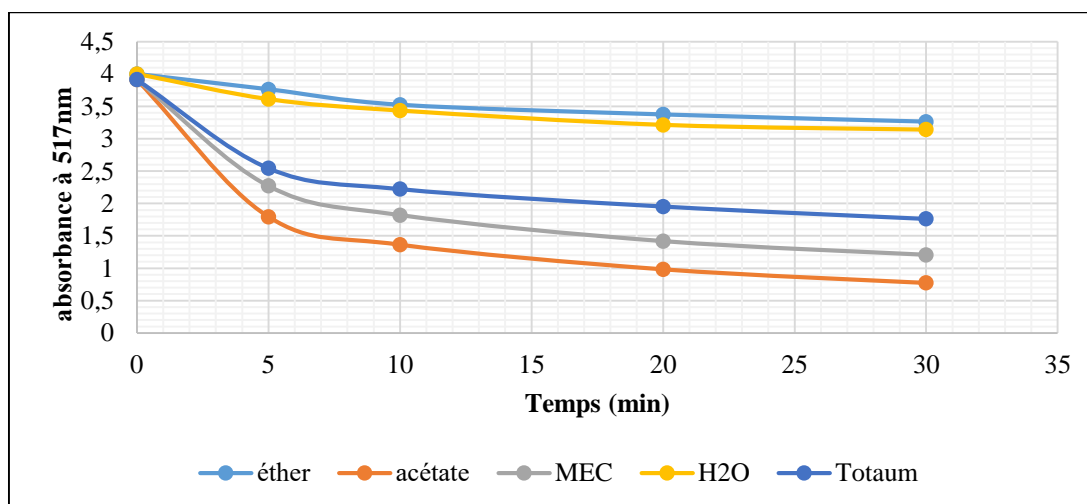


Figure 24: Cinétique de réduction du DPPH par les phases et totum d'*Origanum vulgare*

Résultats et interprétations

Le profil cinétique de la réduction DPPH des phases d'*Origanum vulgare* montre que :

La phase acétate d'éthyle a un pouvoir antiradicalaire plus élevé, suivie par la phase MEC, eau et enfin la phase éther diéthylique.

D'après les cinétiques des deux espèces : les deux phases acétate d'éthyle et MEC possèdent une capacité antioxydante plus forte que celle des phases éther diéthylique et eau pour les espèces étudiées.

La faible capacité antiradicalaire de la phase éther diéthylique qui montre sa richesse en flavonoïdes dans l'étude qualitative est due probablement à l'encombrement stérique des molécules dans cette phase qui empêche l'approche de ces molécules avec les radicaux du réactif de DPPH.

2.1 Comparaison des phases et du totum :

- Visualisation à l'œil nue (après 30 min) :

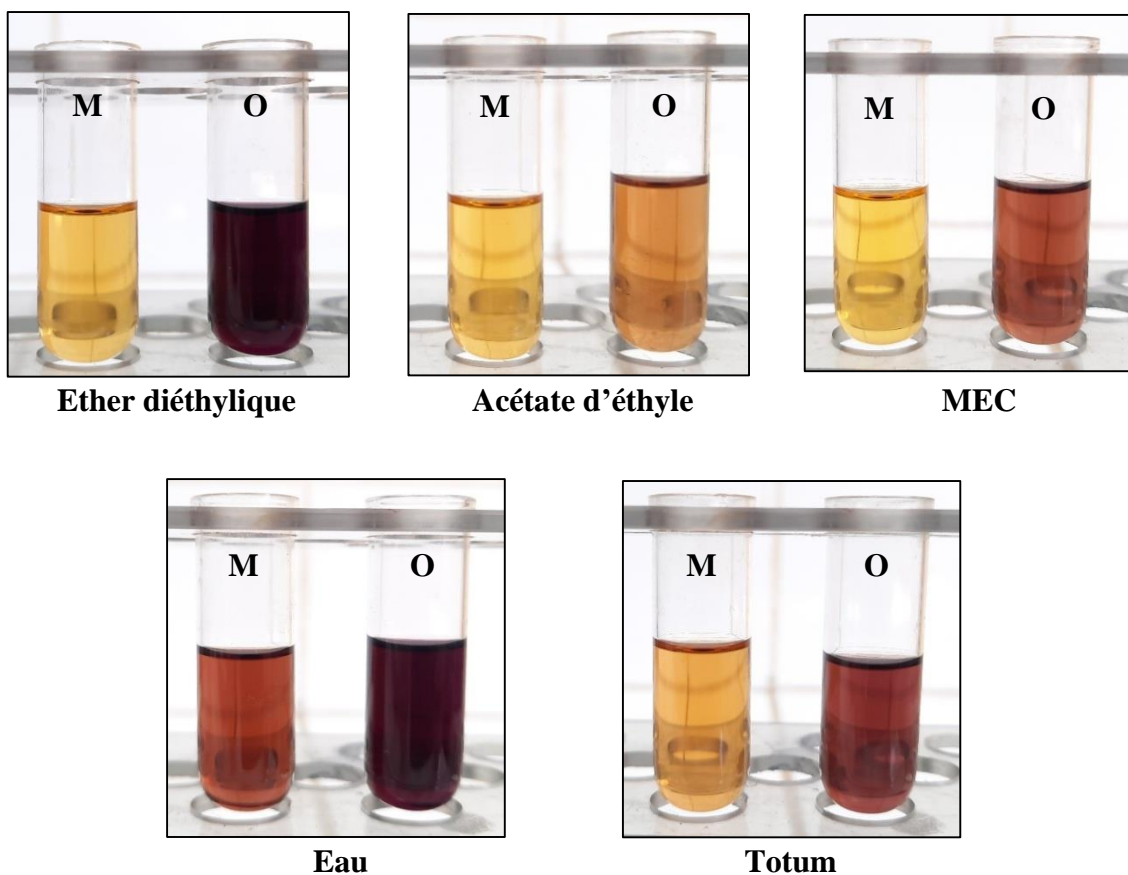


Figure 25: Comparaison des phases et du totum de *Mentha pipérита* et *Origanum vulgare* (après 30 min)

Résultats et interprétations

D'après la figure :

Le grand changement de la couleur du totum et des phases est un indice significatif d'un fort pouvoir antioxydant de *Mentha pipérита* contrairement à celle d'*Origanum vulgare*.

Cette comparaison du changement de la couleur confirme les résultats obtenus précédemment.

- Par spectrophotométrie (après 30min) :

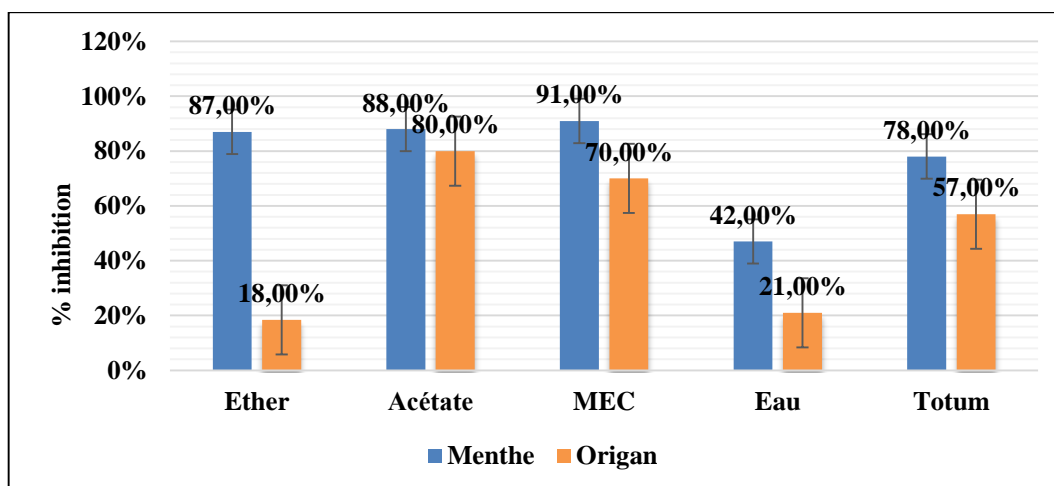


Figure 26: Histogramme du pourcentage d'inhibition des phases et du totum de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare*

D'après l'histogramme :

La capacité inhibitrice des quatre phases et du totum de *Mentha pipérита* est supérieure à celle d'*Origanum vulgare*.

D'après l'étude quantitative et qualitative du pouvoir antioxydant ; la capacité antiradiculaire de *Mentha pipérита* reste toujours plus forte que celle d'*Origanum vulgare*.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours le principal réservoir des principes actifs connus par leurs propriétés antioxydantes. L'objectif de notre travail qui englobe l'extraction, l'étude phytochimique et l'évaluation d'activité antioxydante des feuilles de *Mentha pipérита* et d'*Origanum vulgare* qui sont deux espèces appartiennent à la famille des lamiacées très fréquemment utilisées en Algérie; est de suivre la vague des recherches des alternatifs aux antioxydants synthétiques.

La teneur des extraits hydroalcooliques en composés phénoliques et en flavonoïdes a été dévoilée quantitativement et qualitativement par la méthode colorimétrique de Folin-ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement, les résultats obtenus par l'étude quantitative révèlent la richesse des extraits qui contient des grandes quantités de *Mentha pipérита* en composés phénoliques et tous les extraits en flavonoïdes.

Pour l'étude qualitative, la grande teneur en composés phénoliques chez *Mentha pipérита* est observée dans les phases acétate d'éthyle et MEC et dans les phases éther diéthylique et eau pour la teneur en flavonoïdes. La teneur d'*Origanum vulgare* en composés phénoliques et en flavonoïdes des deux phases acétate d'éthyle et eau est supérieure à celle des autres phases.

Le diagnostic CCM et l'analyse spectrale des phases confirme la richesse de nos espèces en flavonoïdes particulièrement en flavones et flavonols.

Le pouvoir antioxydant des extraits a été évalué par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. L'aspect quantitatif révèle que les extraits riches en *Mentha pipérита* possèdent un bon pourcentage d'inhibition donc cette plante peut considérer comme une source naturel des antioxydants de première classe contrairement au *Origanum vulgare* qui possède un faible taux d'inhibition.

L'aspect qualitatif des deux phases acétate d'éth et MEC pour les deux espèces représente un bon pourcentage d'inhibition par rapport à celle des phases éther diéthylique et eau. Le pouvoir antioxydant des phases et du totum de *Mentha pipérита* est plus fort que celle d'*Origanum vulgare*.

Selon les résultats obtenues par notre étude on peut dire que l'espèce *Mentha pipérита* constitue une riche source des composés phénoliques, des flavonoïdes et des antioxydants naturels qui demande d'être exploiter par les recherches, dans ce contexte on propose de :

- Réalisation des études in vivo sur l'effet antioxydant de *Mentha pipérита*.

Conclusion et perspectives

- Déterminer des principes actifs naturels qui peuvent être des alternatives des antioxydants synthétiques.
- Utilisation des extraits de cette plante comme additifs et agents de conservation alimentaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Akroum, S. (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de Doctorat en Science de l'Université de Constantine.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-product: antioxidant activity, occurrence; and potential uses. *Food Chemistry*, 9 ,p:191 – 120.
- Benayad, N. (2008). Les huiles essentielles extraites par les plantes médicinales marocaine: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V- Agdal de Rabat, Thèse, p:13-30
- Bernard, C. (2019). Origan (*Origanum vulgare*): immunité, bronches et degestion. *Althea conseil*
- Boizot, N., Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, p: 79 – 82.
- Delattre, J., Beaudeau, J.L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris, p: 405
- Dubois, J., Mitterand, H., Dauzat, A. (2005). Grand dictionnaire étymologique et historique du français, Larousse, Paris
- Elansary, H.O., Szopa, A., Kubica, P. (2020). Polyphenol Profile and Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Natural *Mentha × piperita* and *Mentha longifolia* Populations in Northern Saudi Arabia, 8(4),p: 479.
- Frampton, A. (2009). *The Complete Illustrated Book of Herbs. The Reader's Digest Association, Canada.*
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O. (2007). Le stress oxydant. *62 (10)*,p: 628-638.
- Hanganu, D., Benedec, D., Olah, N. (2020). Research on enzyme inhibition potential and phenolic compounds from *Origanum vulgare ssp.vulgare*. *Farmacia*, 68(6).

Références bibliographiques

- Hara, K., Someya, T., Sano, K., Sagane, Y., Watanabe, T., Wijesekara, R.G.S. (2018). Antioxidant activities of traditional plants in Sri Lanka by DPPH free radical scavenging assay. *Data in Brief*, 17,p: 870-875.
- Hartman, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68,p: 2831 - 2846.
- Kim, H. P., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96 (3),p: 229 – 245.
- Kristina, P., Marika, L. (2003). Les antioxydants dans l'alimentation. *Biotechnologie Finlande*, 3, p:738-1069.
- 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 Université de Constantine.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed presses poly technologiques et universitaire romandes.
- Madaci, B., Merghem, R, Derradj, L. (2020). Flavonoids from *Nerium oleander* L. in Constantine – Algeria, 27(2).
- Markham, K. R, Chari, V. M. (1982). In the Flavonoides advances in research eds Harbone & Mabry T.J. Chapman and Hall.
- Markham, K. R. (1982). Techniques of flavonoids identification. Ed Academic Press, p: 6-58.
- Merghem, R. (2011). Les plantes sources de molécules d'intérêt pharmacologique ou nutritionnel. In « congrès international de Nutrition. Université d'Oran, Algérie. p: 24-25.
- Merghem, R. (2000). Rôle des polyphénols et tannins condensés dans l'alimentation humaine. Journée Mondiale de l'alimentation. *Journal Algérien de Médecine*, Vol X, p:113-119.
- Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine, p: 107-133.

Références bibliographiques

- Merghem, R. (2020). Support Cours Génie Biochimique: valorisation des substances végétales bioactives. L3 Biochimie
- Merghem, R., Jay, M. (1994). Five benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae). *Phytochemistry*, 38, p:637-640.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M.S., Ghorbani, A. (2005). Labiatae Family in flore Medicine in Iran: from Ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, p: 63-79.
- Negreche, S., Benattia, A. (2019). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits du *Juniperus oxycedrus*. Diplôme de Master Science, Univ. Mohamed Boudiaf, M'sila, p: 52.
- Olennikov, D. N., Tankhaeva, L. M. (2010). Quantitative determination of phenolic compounds in *Mentha piperita* leaves. *Chemistry of nature compounds*, 46(1).
- Oniga, I., Puscas, C., Silaghi-Dumitrescu, R., et al. (2018). *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical Composition and Biological Studies. *MDPI*, 23(8).
- Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, 11 (6).
- Saffidine, K. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoides extraits de *Carthamus caeruleus* L et de *Plantago major* L. Thèse doctora en science filiere spécialité microbiologie.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxydants on oxidative stress. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), p: 63-66.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, p:144-158
- Tirichine, H. S. (2010). Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie, université d'Oranes-E.
- Zeghad, N., Merghem, R (2013). Antioxydant and antibacterial activities of *Thymus vulgaris* L. *Medicinal and Aromatic plant Research Journal*, 1(1), p: 5-11.

Annexe

Annexe

Annexe

Annexe 1 :

Tableau : Gamme d'étalonnage d'acide gallique

Concentration (mg/ml)	0	0.06	0.12	0.18	0.24	0.3
Volume de solution mère d'acide gallique (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0

Tableau : Gamme d'étalonnage de la quercétine

Concentration (mg/ml)	0	0.024	0.048	0.072	0.096	0.12
Volume de solution mère de quercétine (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0

Annexe

Annexe 2 :

Tableau : Teneur des extraits en composés phénoliques

Extraits	Menthe (01g)	Origan (01g)	Menthe/Origan (0.8g/0.2g)	Menthe/Origan (0.5g/0.5g)	Menthe/Origan (0.2g/0.8g)
Concentration en mg/ml	0.30±0.08	0.14±0.06	0.26±0.17	0.16±0.06	0.21±0.90

Tableau : Teneur des extraits en flavonoïdes

Extraits	Menthe (01g)	Origan (01g)	Menthe/Origan (0.8g/0.2g)	Menthe/Origan (0.5g/0.5g)	Menthe/Origan (0.2g/0.8g)
Concentration des flavonoïdes en mg/ml	0.25±0.16	0.24±0.06	0.25±0.03	0.22±0.05	0.23±0.17

Annexe 3 :

Tableau : Teneur en composés phénoliques

Concentration en mg/ml					
Phase	Ether diéthylique	Acétate d'éther	MEC	Eau	Totum
<i>Mentha pipérита</i>	0,17±0,01	0,26±0,04	0,27±0,004	0,19±0,01	0.30±0.02
<i>Origanum vulgare</i>	0.18±0.01	0.22±0.09	0.16±0.05	0.19±0.11	0.23±0.01

Tableau: Teneur en flavonoïdes.

Concentration en mg/ml					
Phase	Ether diéthylique	Acétate d'éther	MEC	Eau	Totum
<i>Mentha pipérита</i>	0.23±0.08	0.21±0.02	0.18±0.05	0.23±0.21	0.16±0.08
<i>Origanum vulgare</i>	0.13±0.001	0.23±0.03	0.17±0.01	0.26±0.24	0.15±0.08

Annexe

Annexe 4:

Tableau : Pourcentage d'inhibition des extraits


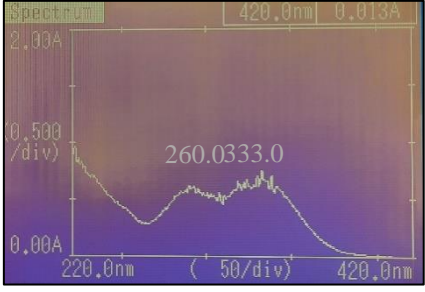


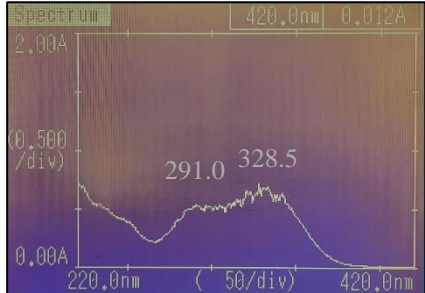


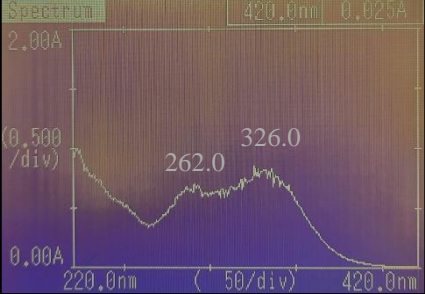


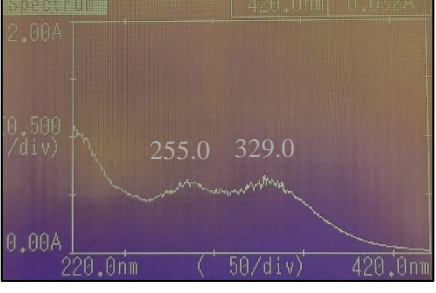

Extraits	Menthe (01g)	Origan (01g)	Menthe/Origan (0.8g/0.2g)	Menthe/Origan (0.5g/0.5g)	Menthe/Origan (0.2g/0.8g)
% d'inhibition	91,06±0,02	43,25±0,29	89,33±0,06	81,06±0,01	80,73±0,01

Tableau : Pourcentages d'inhibition des totums et des phases

% d'inhibition					
Phase	Ether diéthylique	Acétate d'éther	MEC	Eau	Totum
<i>Mentha pipérta</i>	87±0.03	88±0.02	91±0.01	47±0.31	78±0.01
<i>Origanum vulgare</i>	18±0.05	80±0.02	70±0.11	21±0.07	57±0.07


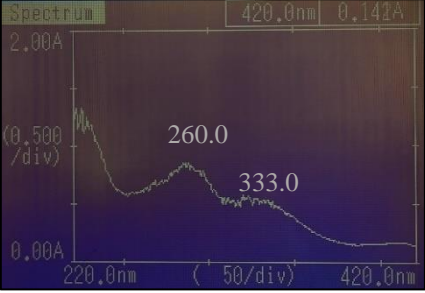


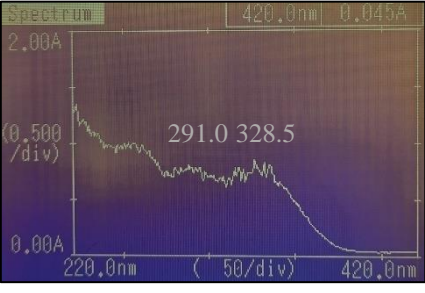







Annexe

Tableau : Diagnostic CCM, spectrophotométrie UV-visible et test DPPH de *Mentha pipéríta*

Diagnostic CCM	Spectrophotométrie UV-visible	Test DPPH
 <p data-bbox="252 667 475 703">Ether diéthylique</p>		
 <p data-bbox="258 1106 459 1142">Acétate d'éther</p>		
 <p data-bbox="322 1550 395 1585">MEC</p>		
 <p data-bbox="316 1984 370 2020">Eau</p>		

Annexe

Tableau : Diagnostic CCM, spectrophotométrie UV-visible et test DPPH d'*Origanum vulgare*

Diagnostic CCM	Spectrophotométrie UV-visible	Test DPPH
 <p data-bbox="288 645 512 680">Ether diéthylique</p>	 <p data-bbox="608 353 1034 645">Spectrum 420,0nm 0,141A 260.0 333.0 220,0nm (50/div) 420,0nm</p>	
 <p data-bbox="312 1077 512 1113">Acétate d'ether</p>	 <p data-bbox="608 797 1034 1088">Spectrum 420,0nm 0,045A 291.0 328.5 220,0nm (50/div) 420,0nm</p>	
 <p data-bbox="368 1462 446 1498">MEC</p>	 <p data-bbox="608 1182 1034 1473">Spectrum 420,0nm 0,134A 262.0 326.0 220,0nm (50/div) 420,0nm</p>	
 <p data-bbox="368 1848 424 1883">Eau</p>	 <p data-bbox="608 1563 1034 1854">Spectrum 420,0nm 0,034A 255.0 329.5 220,0nm (50/div) 420,0nm</p>	

Présenté par :

Lamrani Wissam

Bouchemat Rayane

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Etude comparative de la composition phénolique et l'évaluation de l'activité antioxydante de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* (Lamiacées)

Résumé :

L'objectif de ce travail est l'étude comparative de la composition phénolique ainsi la capacité antiradiculaire des extraits des feuilles de *Mentha pipérta* et d'*Origanum vulgare* qui sont deux espèces appartiennent à la famille des Lamiacées.

Les extraits hydroalcooliques (éthanol/eau) de ces plantes ont été obtenus par macération à froid. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes a été évaluée par la méthode de Folin-ciocalteu et trichlorure d'aluminium respectivement. L'analyse quantitative montre la richesse de *Mentha pipérta* en composés phénoliques et les deux espèces en flavonoïdes. L'analyse qualitative des phases représente une variation en composés phénoliques et en flavonoïdes chez les deux espèces.

Une séparation par CCM, révélation chimique par un réactif spécifique, visualisation sous UV à 365 nm suivie par une analyse spectrale UV-visible a permis de mettre en évidence de nombreuses spots dans toutes les phases et d'identifier les molécules des deux espèces et cela indique que les deux plantes sont riches en flavonoïdes notamment en flavones et en flavonols.

L'évaluation du pouvoir antioxydant in vitro par la méthode de piégeage du radical libre DPPH permet de conclure que le taux de ce pouvoir est très élevé chez *Mentha pipérta* par rapport à celle d'*Origanum vulgare* pour l'aspect quantitatif et qualitatif.

Mots clés : *Mentha pipérta*, *Origanum vulgare*, composés phénoliques, flavonoïdes, pouvoir antioxydant.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Phytochimie à Université des Frères Mentouri Constantine

Président du jury : Khedara Abdelkrim (MCA UFM Constantine1)

Encadreur : Merghem Rachid (Professeur UFM Constantine1)

Examineur : Madaci Brahim (MCA UFM Constantine1)