



الجمهورية 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
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

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

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 :

*Caractérisation chimique et activités biologiques
d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Lepidium
sativum*.*

Présenté et soutenu par : AISSOUS Assia

BECHARA Rima

Le : 20 /06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. HABIBATNI Zineb (maitre de conférences classe B-UFM Constantine).

Rapporteur : Dr. HALMI Sihem (maitre de conférences classe B-UNF Constantine).

Examineur : Mme MADI Aicha (maitre assistante classe A-UNF Constantine).

Année universitaire
2015 - 2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicaces

*Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère mère **Yamina**. Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but, et de vos prières pour moi.*

*A mon cher père **Ali** qui ont toujours souhaité notre réussite et qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie.*

*A mes chères frères : **Mouhamed** et **Khaled**.*

*A mes chère sœurs : **Samira** et **Aïcha**.*

*A ma belle-sœur **Amina**.*

*A mes neveux **Hamza**, **Ibrahim**, **Nouh**, **Adem**, **Koussai** et **Oussama** et aussi mes nièces **Manar** et **Khouloud**.*

*A mon fiancé **Salim** qui m'a beaucoup encouragée tout le long de ce travail. Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus stressants.*

*A mes meilleure amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir: **Khouloud**, **Nada**, **Ghada**, **Chaima**, **Besma**, **Halima**, **Rima** et **Meriem**.*

A toute ma famille.

A mes ami(e)s de la promotion de master BMS.

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

***Assia**.*

Dédicaces

Grace à dieu tout puissant, je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et plus particulièrement :

A Ma très cher mère **Nacera** qui m'a soutenu durant toute ma vie, et m'a appris a aimé le travail et le comportement pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit.

♥Merci maman ♥.

A Mon père **Hamlaoui** Pour sa patience, son amour et son soutien.

A mes grand parents **Ammar, Aïda** et **Alaoua** que dieu les protèges.

A mes chers frères : **Mohamed, Mehdi, Yasser, Badrou** et **Yahia**.

A mes meilleures chères amies : **Halima, Meriem, Assia** et **Maroua**.

Rima

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.

Nous remercions notre encadreur Dr. HALMI Sihem pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail ; sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus universitaire.

Je remercie Dr. HABIBATNI Zineb, Maître de conférences classe B, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également Mme MADI Aïcha, Maître assistante classe A, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous aidé dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel du laboratoire de biochimie en particulier Ammar, Nabil et Hocine.

Nous ne voudrions pas oublier tous nos collègues que nous avons côtoyés au Laboratoire de biochimie, notamment: Sarah, Marwa, Meriem, Sara et bien d'autres encore...

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche et que n'a pas cités, trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Merci

Rima et Assia.

Résumé

Lepidium sativum est une plante qui appartient à la famille Brassicaceae, qui recèle de multiples propriétés médicinales.

Notre travail a porté sur l'étude de l'extrait méthanolique de graines de *L.sativum*, le criblage phytochimique et les tests colorimétriques ont révélé la présence de quelques groupes chimiques (Flavonoïdes, Alcaloïdes, Coumarines ... etc) susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Les activités anti-radicalaires ont été évaluées à travers deux méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer. D'après les résultats, l'extrait est doté d'un potentiel anti-radicalaire et antioxydant modéré par rapport à l'antioxydant standard employé.

Les résultats de l'activité analgésique réalisée in vivo sur des rats indiquent que l'extrait méthanolique de cette plante possède des propriétés analgésiques périphériques.

MOT CLES: Brassicaceae ; *Lepidium sativum* ; métabolite secondaire ; activité antioxydante ; activité analgésique.

Abstract

Lepidium sativum is a plant that belongs to the Brassicaceae family, which harbors many medicinal properties.

Our work has focused on the study of the methanol extract from seeds *L.sativum*, the phytochemical screening and colorimetric tests revealed the presence of some chemical groups (Flavonoids, alkaloids, Coumarinsect) likely to express activities sought.

The radical scavenging activities were evaluated through two methods: the test of free radical trapping DPPH and the test reduction of iron. According to these results, the extract has a potential antioxidant anti-radical moderate compared to the standard used antioxidant.

The results of the analgesic activity conducted in vivo in rats indicate that the methanol extract of this plant has peripheral analgesic properties.

Key Words: Brassicaceae ; *Lepidium sativum* ; secondary metabolite ; antioxidant activity ; analgesic activity.

المخلص

حب الرشاد هو النبات الذي ينتمي إلى عائلة كرنبية، التي يحتوي على العديد من الخصائص الطبية.

عملنا يركز على دراسة المستخلص الميثانولي لبذور حب الرشاد. حيث كشف الفحص الكيميائي

النباتي والاختبارات اللونية على وجود بعض المجموعات الكيميائية (الفلافونويدات، القلويدات،

الكومارين....الخ). و هذه المجموعات قادرة على التعبير عن الأنشطة المطلوبة.

تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة من خلال طريقتين: اختبار المحاصرة باستعمال الجذر الحر و

اختبار إرجاع الحديد. و من خلال النتائج، المستخلص لديه خاصية النشاطية المضادة للأكسدة لمكافحة

الراديكالية والمعتدلة و هذا بالنسبة لمضادات الأكسدة المستخدمة القياسية.

وتشير نتائج النشاط المسكن للألم المطبقة عن طريق الفحص الحي للفئران أن المستخلص

الميثانولي لهذا النبات له خصائص مسكنة طرفية.

الكلمات المفتاحية : كرنبية؛ حب الرشاد؛ الأيض الثانوي؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ النشاط مسكن للألم.

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau N° 1 : Principales classes des flavonoïdes | 13 |
| Tableau N° 2: Classification des alcaloïdes | 20 |
| Tableau N° 3: Quelques exemples des différents types de terpenoïdes | 21 |
| Tableau N° 4: Résultats du criblage phytochimique des graines de <i>Lepidium sativum</i> | 44 |
| Tableau N° 5: Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique | 46 |
| Tableau N° 6: Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique | 48 |
| Tableau N° 7 : Les valeurs des IC50 des extraits testés | 51 |
| Tableau N° 8: Etude de l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de <i>L.sativum</i> à l'acide acétique | 53 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure N° 1: <i>Lepidium sativum</i> | 7 |
| Figure N° 2 : Structure de base de polyphénol..... | 11 |
| Figure N° 3 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe | 11 |
| Figure N° 4 : Structure de base des flavonoïdes | 12 |
| Figure N° 5 : Structure de base lignanes | 15 |
| Figure N° 6 : Structure générale des tanins hydrolysables. | 17 |
| Figure N° 7 : Structure de tanins condensés | 17 |
| Figure N° 8 : Structure de base des terpénoïdes. | 21 |
| Figure N° 9 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants | 25 |
| Figure N° 10 : Schéma du Stress oxydants | 26 |
| Figure N° 11 : Les conséquences du stress oxydant | 30 |
| Figure N° 12 : <i>Lepidium sativum</i> en poudre | 34 |
| Figure N° 13 : Un évaporateur rotatif | 35 |
| Figure N° 14 : Schéma d'extraction par les solvants organique | 36 |
| Figure N° 15 : Matériel du dosage des polyphénols | 39 |
| Figure N° 16 : Matériel du dosage des flavonoïdes | 40 |
| Figure N° 17 : Matériel du pouvoir réducteur | 41 |
| Figure N° 18 : Matériel du l'activité antioxydante par DPPH | 42 |
| Figure N° 19 : Injection intra-péritonéale d'acide acétique à 1% chez le rat | 43 |
| Figure N° 20 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique | 47 |
| Figure N° 21 : Droite d'étalonnage de la quercetine | 48 |

| | |
|--|----|
| Figure N° 22 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH | 50 |
| Figure N° 23 : % d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique | 50 |
| Figure N° 24 : % d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait | 51 |
| Figure N° 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de <i>Lepidium sativum</i> et l'acide ascorbique | 53 |
| Figure N° 26 : Le rat avec une crampe | 55 |

Les Abréviations

% : Pourcentage

Abs : Absorbance

ADN : Acide ribonucléique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

C : Carbone

CI50: Concentration inhibitrice à 50%

cm : centimètre

COX-1 : Cyclooxygenase-1

COX-2 : Cyclooxygenase-2

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

EAG/g.MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

EQ/g.MS: Equivalent de quercetine par gramme de matière sèche

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Trichlorure de fer

g : gramme

h : heure

H₂O : Eau

H₃PMo₁₂O₄₀ : acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène

ip : intra-péritonéale

KD : kilodalton

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium

Kg : kilogramme

KOH : hydroxyde de potassium

LDL : Low density lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

Mg²⁺ : Magnésium

min : Minutes

ml : Millilitre

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaOH : Hydroxyde de sodium

NC : nombre de contorsion

NCTe : nombre moyen des contorsions dans le lot témoin

NCTr : nombre moyen des contorsions dans le lot traité

nm : nanomètre

NO• : Monoxyde d'azote

NO₂ : nitrique dioxyde

O₂• : anion superoxyde

OH• : radical hydroxyl

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONOO⁻ : Le peroxydinitrite

PR : pouvoir réducteur

R : radical

RO• : Radical oxyl

ROO• : Radical peroxy

ROS : Reactive oxygen species

SOD : superoxyde dismutase

µg : microgramme

µl : Microlitre

v/v : Rapport volume par volume

La table des matières

| | Page |
|--|------|
| Introduction générale | 2 |
| Partie I : Synthèse bibliographique..... | 4 |
| Chapitre I : Etude botanique de la plante..... | 5 |
| 1. La famille Brassicaceae..... | 6 |
| 2. Le genre <i>Lepidium</i> | 6 |
| 3. L'espèce <i>Lepidium sativum</i> | 6 |
| 3.1. Description..... | 6 |
| 3.2. Répartition géographique..... | 7 |
| 3.3. La systématique de la plante..... | 8 |
| 4. Propriétés..... | 8 |
| 4.1. Propriétés chimiques..... | 8 |
| 4.2. Propriétés pharmacologiques..... | 8 |
| | |
| Chapitre II : Les métabolites secondaires..... | 9 |
| 1. Définition..... | 10 |
| 2. Classification des métabolites secondaires..... | 10 |
| 2.1. Les composés phénoliques..... | 10 |
| 2.1.1. Définition | 10 |
| 2.1.2. Structure chimique | 10 |
| 2.1.3. Classification des composés phénoliques | 11 |
| 2.1.3.1. Les flavonoïdes | 12 |
| a. Définition | 12 |
| b. Structure | 12 |

| | |
|--|----|
| c. Classification des flavonoïdes | 12 |
| d. Distribution et localisation | 14 |
| e. Propriétés biologiques des flavonoïdes | 14 |
| 2.1.3.2. Les lignanes..... | 15 |
| a. Définition | 15 |
| b. Structure des lignanes..... | 15 |
| c. Activités biologiques | 16 |
| 2.1.3.3. Les tanins | 16 |
| a. Définition | 16 |
| b. Structure chimique et classification des tanins | 16 |
| b.1. Tanins hydrolysables | 16 |
| b.2. Les tannins condensés | 17 |
| c. Localisation et distribution | 18 |
| d. Activités biologiques des tanins | 18 |
| d.1. Effets bénéfiques des tannins | 18 |
| d.2. Effets toxiques | 18 |
| 2.2. Les alcaloïdes | 19 |
| 2.2.1. Définition | 19 |
| 2.2.2. Structure des alcaloïdes | 19 |
| 2.2.3. Classification des alcaloïdes | 19 |
| 2.2.3.1. Les alcaloïdes vrais | 19 |
| 2.2.3.2. Les pseudo-alcaloïdes | 19 |
| 2.2.3.3. Les proto-alcaloïdes | 20 |
| 2.2.4. Effet pharmacologique | 20 |
| 2.3. Les composés Terpénoides..... | 21 |
| 2.3.1. Définition | 21 |
| 2.3.2. Structure des Terpénoides..... | 21 |
| 2.3.3. Classification des terpénoides..... | 21 |
| 2.3.4. Répartition et localisation des terpènes..... | 23 |
| 2.3.5. Activités biologiques | 23 |
| Chapitre III : Stress oxydant | 24 |
| I. Stress oxydatif | 25 |
| 1. Définition | 25 |

| | | |
|--|--|----|
| II. | Les radicaux libres | 26 |
| 1. | Définition | 26 |
| 2. | Les principales espèces réactives de l'oxygène | 27 |
| 2.1. | L'anion superoxyde..... | 27 |
| 2.2. | L'oxygène singulet..... | 27 |
| 2.3. | Le peroxyde d'hydrogène..... | 27 |
| 2.4. | Le radical hydroxyle | 27 |
| 2.5. | Le monoxyde d'azote | 28 |
| 2.6. | Nitrique dioxyde NO ₂ • | 28 |
| 2.7. | Le peroxydinitrite | 28 |
| 3. | Sources et formation des radicaux libres | 28 |
| 3.1. | Origine endogène | 28 |
| 3.2. | Origine exogène | 29 |
| 4. | Conséquences du stress oxydant | 29 |
| III. | Système de défenses antioxydants..... | 30 |
| 1. | Définition | 30 |
| 2. | Les principaux antioxydants | 31 |
| 2.1. | Les antioxydants endogènes | 31 |
| 2.2. | Les antioxydants exogènes | 31 |
| Partie II : La partie expérimentale..... | | 32 |
| Chapitre I : Matériels et méthodes..... | | 33 |
| I. Matériel | | 34 |
| 1. Matériel végétal | | 34 |

| | |
|--|----|
| 2. Matériel animal | 34 |
| II. Méthodes | 34 |
| 1. Préparation des extrait | 34 |
| 1.1. Le principe | 35 |
| 1.2. L'objectif | 35 |
| 1.3. Protocole d'extraction | 35 |
| 2. Screening phytochimique de l'extrait végétal | 36 |
| 2.1. Test des quinones libres | 37 |
| 2.2. Test des tanins | 37 |
| 2.3. Test des saponines | 37 |
| 2.4. Test des flavonoïdes | 37 |
| 2.5. Test des phénols | 37 |
| 2.6. Test des stérols ou triterpènes..... | 37 |
| 2.7. Test des flavonoïdes glycosides | 38 |
| 3. Caractérisation quantitative des extraits | 38 |
| 3.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu).... | 38 |
| 3.2. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium | 39 |
| 4. Les activités biologiques in vitro | 40 |
| 4.1. Le pouvoir réducteur(PR) | 40 |
| 4.2. Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) | 41 |
| 5. Activité biologique in vivo | 42 |
| 5.1. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion) | 42 |
| Chapitre II : Résultats et Discussion..... | 44 |

| | |
|--|----|
| 1. Screening phytochimique..... | 45 |
| 2. Dosage spectrophotométrique | 47 |
| 2.1. Teneurs en polyphenols totaux | 47 |
| 2.2. Teneurs en flavonoïdes | 48 |
| 3. Activité antioxydant | 49 |
| 3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH | 49 |
| 3.2. Test de la réduction du fer FRAP | 52 |
| 4. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion) | 53 |
| Conclusion générale..... | 56 |
| Références Bibliographiques..... | 59 |
| Annexes..... | 69 |

**INTRODUCTION
GENERALE**

Introduction

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies pour l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans les différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle ont été constatés (**Muthu et al, 2006**).

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires posséder diverses propriétés biologiques (**Haddouchi et al, 2009**).

Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement riches, elles contiennent de structures chimiques complexes. Le métabolisme des plantes contient de milliers de différents constituants dont l'effet thérapeutique n'est évidemment pas lié à tous les composés, de même pour ce qui est d'effet nocif ou toxique (**Ahmed et al, 2004**).

Le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national.

Lepidium sativum (Brassicacées) est une plante annuelle à croissance rapide qui est originaire d'Egypte et d'ouest de l'Asie, mais elle est maintenant cultivée dans l'ensemble du monde. Ses jeunes feuilles sont consommées crues ou cuites, tandis que ses graines sont utilisées, fraîches ou séchées (**Facciola et Cornucopia, 1990**). La pâte graines est appliquée aux articulations rhumatismales pour soulager la douleur et gonflement. Les graines sont aussi utilisées pour traiter les maux de gorge, la toux, l'asthme et les maux de tête, et les maux d'estomac (**Datta et al, 2011**).

Le présent travail rentre dans le vaste cadre de la recherche de substance naturelle extraite du règne végétal, et l'étude de leurs activités biologiques, antioxydantes et analgésiques.

Introduction Générale

Notre manuscrit est scindé en trois parties :

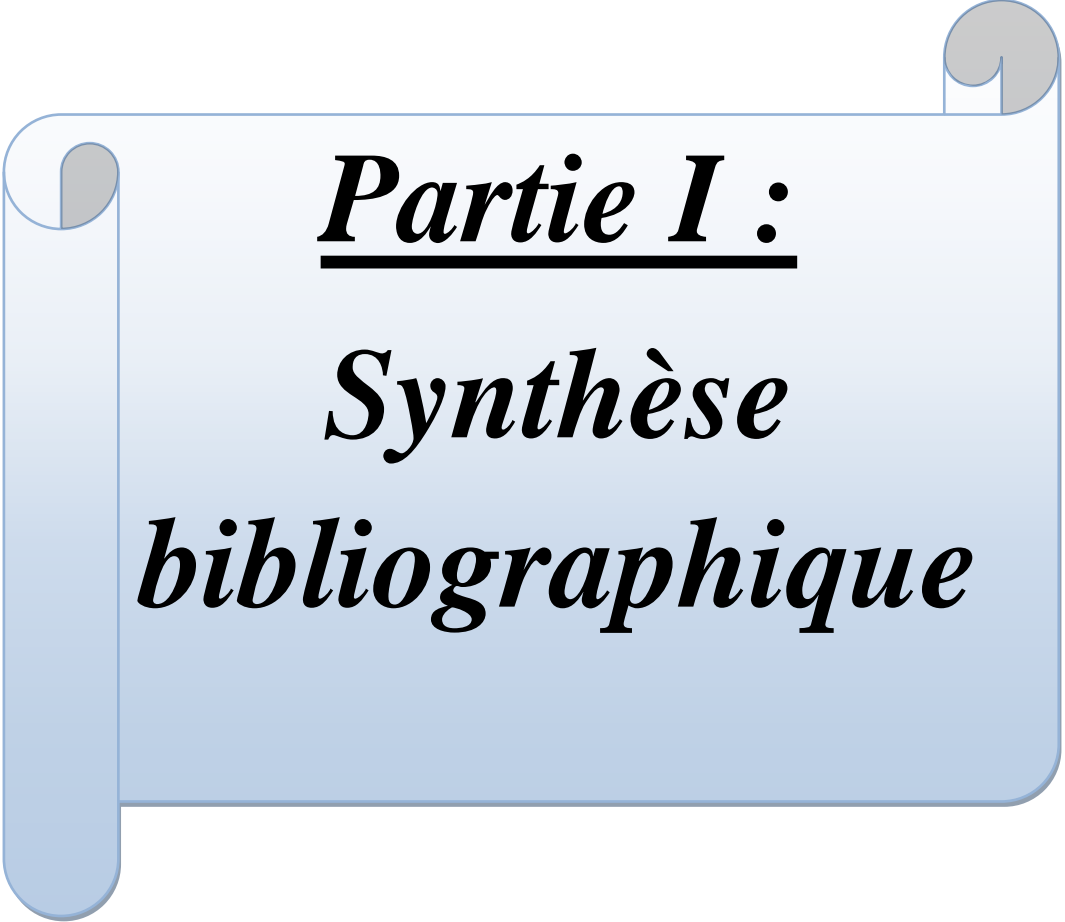
La première partie consacrée à l'étude bibliographique est divisé en trois chapitres :

- Le premier est dédié à une description botanique générale de l'espèce étudié (*Lepidium sativum*) et leurs répartitions géographiques.
- Le deuxième chapitre donne un aperçu sur les métabolites secondaire et leurs modes d'action.
- Le troisième chapitre donne quelques informations sur le stress oxydant.

Dans la deuxième partie, divisé en deux chapitres, nous avons axé sur le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail : le matériel d'étude, méthodes utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique (des polyphénols et des flavonoïdes), les activités anti-oxydantes, l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de notre plante.

Les résultats et la discussion de chaque expérimentation de notre travail, sont exposés dans le deuxième chapitre de cette partie.

Pour terminer, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi quelles perspectives ont été dégagées.



Partie I :
Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Etude botanique de la
plante

Chapitre I : Etude botanique de la plante

Chapitre I : Etude botanique de la plante.

1. La famille Brassicaceae (crucifères) :

Les Brassicaceae sont cosmopolites, certaines se sont adaptées à des milieux particuliers, comme les montagnes ou les déserts, présentent une lignification poussée et une surface foliaire réduite. Cette famille des Crucifères est très homogène, très évoluée, facile à définir et très reconnaissable par ces fleurs à pétales disposés en croix, d'où le nom de Crucifère (du latin « cruce[m] ferre », porter une croix) (**Guingard et Dupont, 2004**).

La famille des Crucifères est représentée par 10 tribus en Algérie (**Maire, 1967**).

2. Le genre *Lepidium* :

Le genre *Lepidium* est constitué d'environ 175 espèces, largement distribuées à travers le monde, sur tous les continents. C'est l'un des genres les plus représentés de la famille des Brassicacées. Peu d'informations sont connues sur la période d'apparition de ce genre. Il semble que celui-ci soit originaire du bassin méditerranéen, où la plupart des espèces diploïdes ont été trouvées.

Lepidium est la transcription du grec lepidion qui signifie petite coquille. Ce sont des plantes annuelles, vivaces ou sous-ligneuse, à fleurs petites, blanches, rose ou violacées, caractérisées par la silicule déhiscente, à loge renfermant une ou rarement deux graines (**Docteur Pierrick Hordé, 2013**).

3. L'espèce *Lepidium sativum* :

Lepidium sativum est le nom botanique du cresson alénois (ou passerage cultivée), une plante médicinale bien connue.

3.1. Description :

Lepidium sativum est une plante annuelle de croissance rapide. Il développe en quelques mois une plante haute de 20 à 50 cm au moment de la floraison. Les inflorescences sont apicales : quelques groupes de petites fleurs blanches à 4 pétales. Les graines sont produites par 2 dans de petites siliques dressées, longue de 2 à 3 cm. les graines sont allongées, brun rouge.

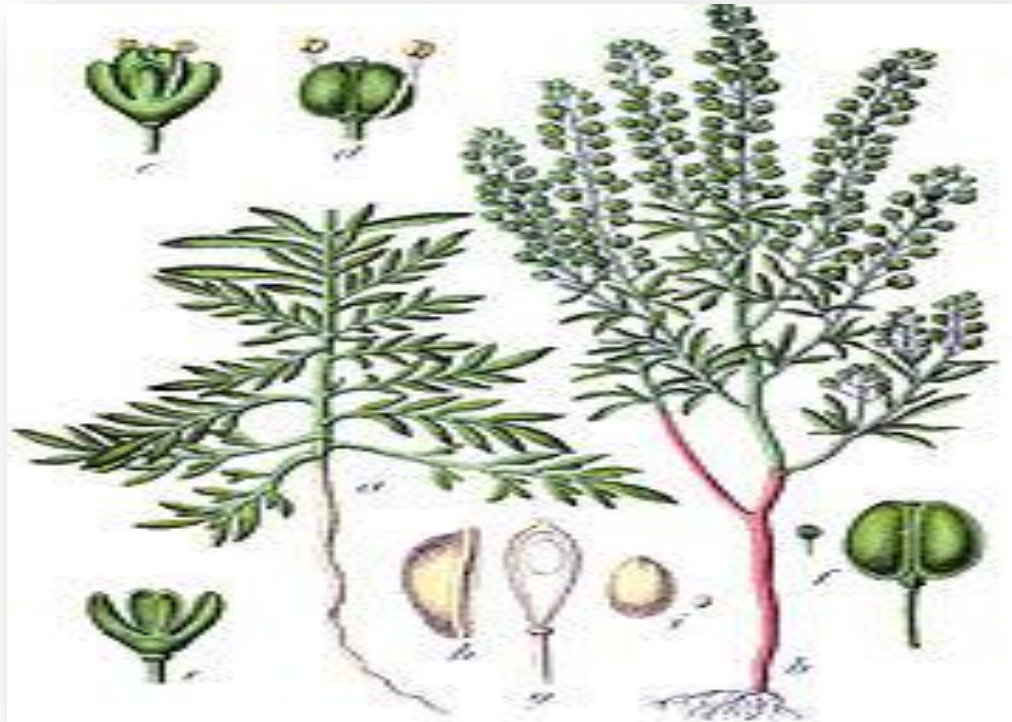


Figure N° 1 : *Lepidium sativum* (Grubben et al, 2005).

3.2.Répartition géographique :

L'origine du cresson alénois est assez floue : Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen-Orient, Asie de l'Ouest, mais on pense qu'il pourrait s'agir de l'Ethiopie et des pays avoisinants. Sa domestication s'est probablement faite en Asie occidentale. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Egypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. On le trouve aussi dans la nature, échappé des cultures, mais on ne sait pas s'il existe quelque part à l'état sauvage (**Jansen, 2007**).

Chapitre I : Etude botanique de la plante

3.3.La systématique de la plante:

Règne: *Plantae* (plante)

Sous-règne: *Tracheobionta* (plante vasculaires)

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Dilleniidae*

Ordre: *Capparales*

Famille : *Brassicaceae*

Genre :*Lepidium*

Espèce : *Lepidium sativum*

(Muséum national d'Histoire naturelle, 2009)

4. Propriétés :

4.1. Propriétés chimiques :

La tige et les feuilles de *Lepidium sativum* contiennent des glucosinolates, le composant principal étant la glucotropéoline (benzyl glucosinolate). Distillée à la vapeur, la plante produit environ 0,1% d'huile essentielle incolore, à l'odeur piquante.

La graine donne près de 25% d'une huile brun jaunâtre semi-siccative à odeur particulière et déplaisante. L'huile est riche en acides oléique, linoléique et urique, et contient également des alcaloïdes imidazoles. Le tégument de la graine germée contient beaucoup de mucilage, lequel présente une substance allélopathique, le lépidimoïde (Jansen, 2007).

4.2. Propriétés pharmacologiques :

Cette plante se révèle efficace contre de nombreux troubles digestifs en raison de son action stimulante, laxative et diurétique. De plus, il lutte contre la constipation et les hémorroïdes et il apaise les maux de ventre. Par ailleurs, le *Lepidium sativum* est utile en cas d'asthme ou de toux (Aouadhi, 2010).

Chapitre II :
Métabolites
Secondaire

Chapitre II : Les métabolites secondaires :

1. Définition :

Le métabolisme secondaire implique les voies métaboliques primaires spécifiques à certains organismes végétaux. Donc les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction (**Laurent, 2012**).

Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Ces composés ne se trouvent pas dans toutes les plantes (**Laurent, 2012**).

2. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Ces composés se trouvent dans toutes les parties des plantes mais distribués selon leurs rôles défensifs.

2.1. Les composés phénoliques :

2.1.1. Définition :

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**).

2.1.2. Structure chimique :

La structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (**Boros et al, 2010**).

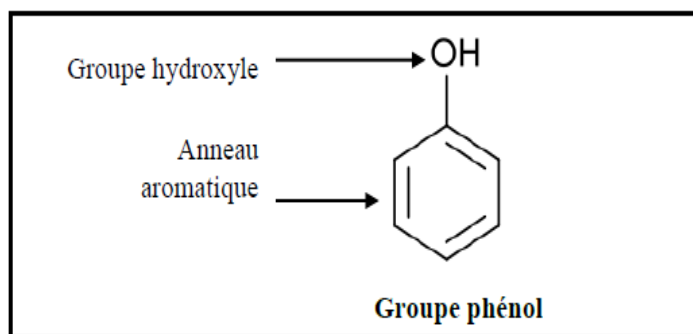


Figure N° 2 : Structure de base de polyphénol.

2.1.3. Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. On distinguera :

- ✓ Les dérivés C₆C₁.
- ✓ Les dérivés C₆C₃ ou phenylpropanoïdes.
- ✓ Les flavonoïdes, sont plus importants.

Les tannins, composés provenant de la polymérisation de ces dérivés aromatiques feront l'objet de partie séparée (Merghem, 2009).

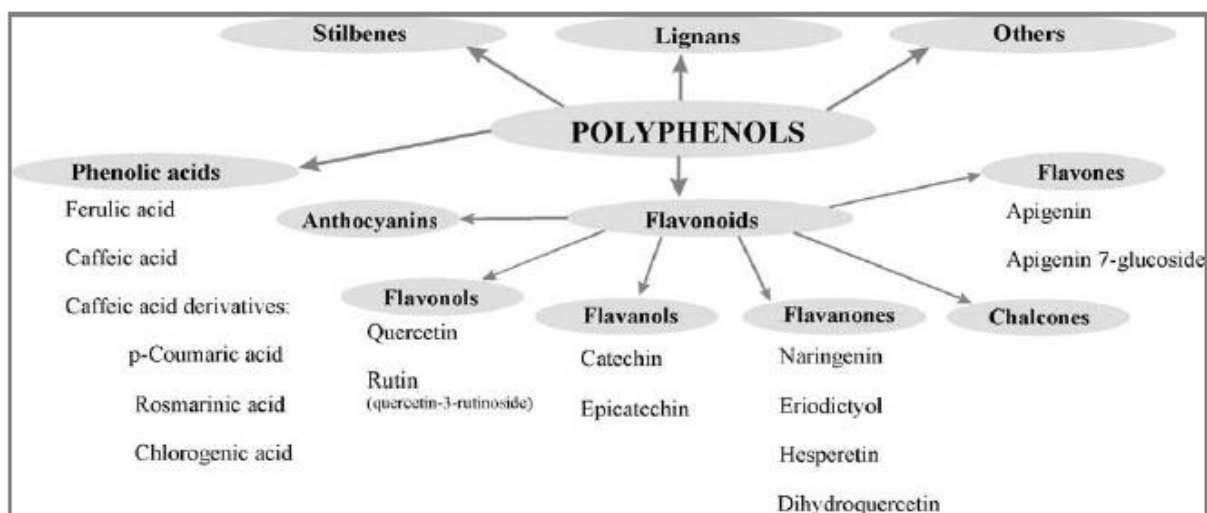


Figure N° 3 : Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe.

(Boros et al, 2010).

2.1.3.1. Les flavonoïdes :

a. Définition :

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002**).

b. Structure :

Ces molécules ont un poids moléculaire faible, se présentant en 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C₆-C₃-C₆, elles sont composées de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle.

Les substitutions variées au sein de la molécule donnent les différentes sous-classes des flavonoïdes : Les flavones, et les flavonols sont les plus connus grâce à leur pouvoir antioxydant élevé, et les plus divers sur le plan structural.

Les substitutions touchant les noyaux A ou B qui peuvent survenir dans chaque classe des flavonoïdes sont : une oxydation, alkylation, glycosylation, acylation, et sulfonation (**Mouffok, 2011 ; Mohammedi, 2011**).

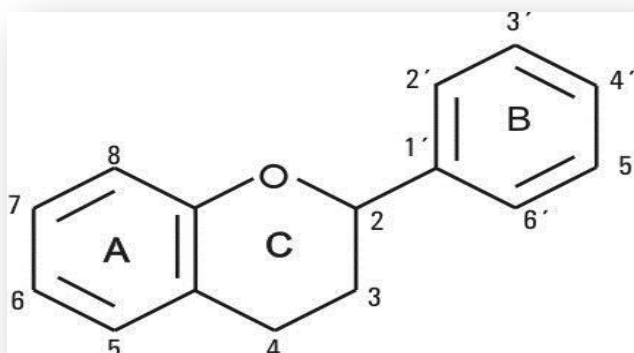


Figure N° 4 : Structure de base des flavonoïdes.

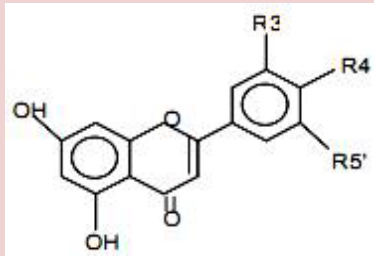
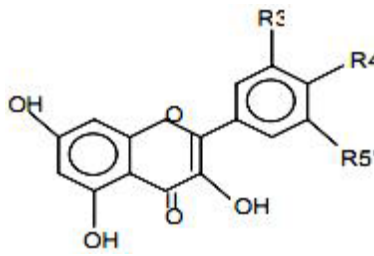
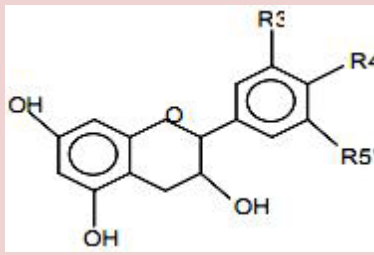
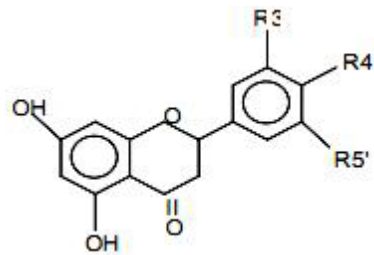
c. Classification des flavonoïdes :

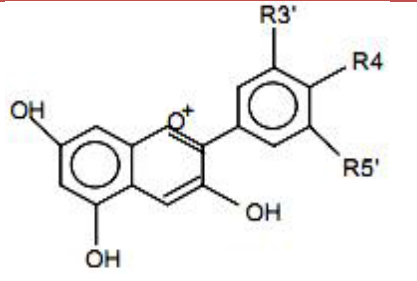
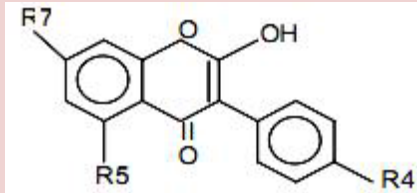
Les flavonoïdes se différencient par le degré d'hydroxylation et l'hétérocycle C et par les modes d'hydroxylation des anneaux A et B. dans toutes les classes de flavonoïdes mentionnées ci-dessous, la biosynthèse justifie la présence fréquente d'au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4' de la génine : cependant, l'un d'entre eux peut être absent. Six grandes classes de flavonoïdes peuvent être mentionnées. Les flavones et les

flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus. Alors que les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (**Bruneton, 1999 ; Harborne et williams, 2000 ; Havsteen, 2002 ; Dacosta, 2003**).

Quelques classes sont cités dans le tableau :

Tableau N° 1 : Principales classes des flavonoïdes (Bougandoura, 2011).

| Classes | Structures chimiques | R3' | R4' | R5' | Exemples |
|---------------|---|-----|------------------|-----|---------------|
| Flavones |  | H | OH | H | Apigénine |
| | | OH | OH | H | Lutéoline |
| | | OH | OCH ₃ | H | Diosmétine |
| Flavonols |  | H | OH | H | Kaempférol |
| | | OH | OH | H | Quercétine |
| | | OH | OH | OH | Myrecétine |
| Flavanols |  | OH | OH | H | Catéchine |
| Flavanones |  | H | OH | H | Naringénine |
| | | OH | OH | H | Eriodictyol |
| Anthocyanidin | | H | OH | H | Pelargonidine |

| | | | | | |
|-------------|---|----|-------|-----|--------------|
| es |  | OH | OH | H | Cyanidine |
| | | OH | OH | OH | Delphénidine |
| Isoflavones |  | R5 | R7 | R4' | |
| | | OH | OH | OH | Genisteine |
| | | H | O-Glu | OH | Daidzeine |

d. Distribution et localisation:

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fruits, graines, et l'écorce (**Lee et al, 1994**).

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eu une large distribution dans les fruits et les légumes, tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Elles sont considérées comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (**Lahouel, 2005 ; Piquemal, 2008**).

e. Propriétés biologiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes. Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes. Les flavonoïdes, en particulier, sont impliqués chez les plantes dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse, et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant. Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement

réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Gauthuret, 1968**).

2.1.3.2. Les lignanes :

a. Définition :

Les lignanes sont les dimères des unités de phényl propane (C₆ C₄) (**Benarous, 2009**). Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaires dans le règne végétal. La distribution botanique des lignanes est large: plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruites est les graines (**Midoun, 2011**).

b. Structure des lignanes :

Les lignanes sont répartis en huit groupes structuraux, classés selon le mode d'incorporation du (ou des) atome (s) d'oxygène dans le squelette carboné et selon le type de cyclisation (**Umezawa, 2003**).

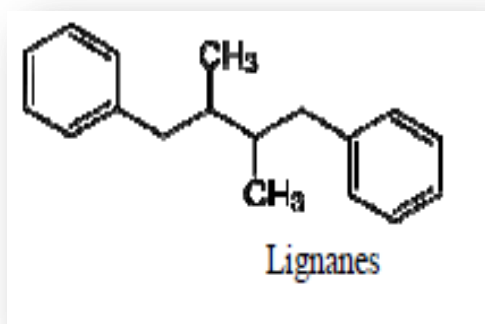


Figure N° 5 : Structure de base lignanes.

c. **Activité biologique :**

Selon (McRae et Towers, 1984 ; Charlton, 1998; Fauré et al, 1990 ; Saleem et al, 2005 ; Cos et al, 2008 ; Pan et al, 2009 ; Yousef zadi et al, 2010), les lignanes présentent plusieurs activités biologiques telles que les : Antiviral, anticancéreux, antimicrobien et antioxydant.

2.1.3.3. **Les tanins :**

a. **Définition :**

Le terme « tanin » (ou tannin) vient du mot tannage. Les tanins sont des composés polyphénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire entre 500 et 3000 KD (polymères), et qui présentent, à côté des réactions des phénols des propriétés de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Bruneton, 2009).

b. **Structure chimique et classification des tanins :**

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes.

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

b.1. **Tanins hydrolysables :**

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose). Ce sont des tanins galliques, on les trouve dans les noix et les framboises, ils sont très répandus dans les plantes comestibles (Mueller et Harvey, 2006).

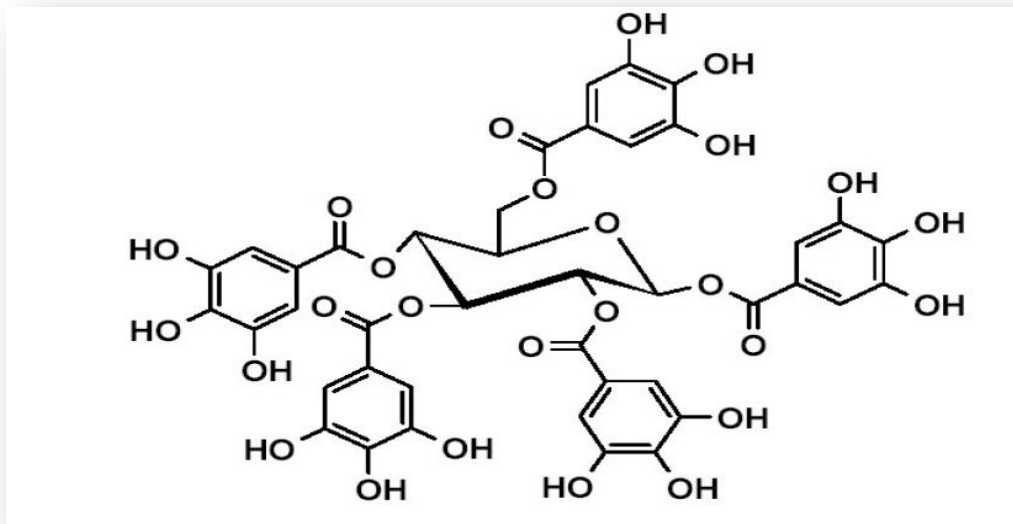


Figure N° 6 : Structure générale des tanins hydrolysables.

b.2. Les tannins condensés :

Ce sont des proanthocyanidines. C'est-à-dire, des composés polyphénoliques hétérogènes : dimères, oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Boudjouref, 2011**).

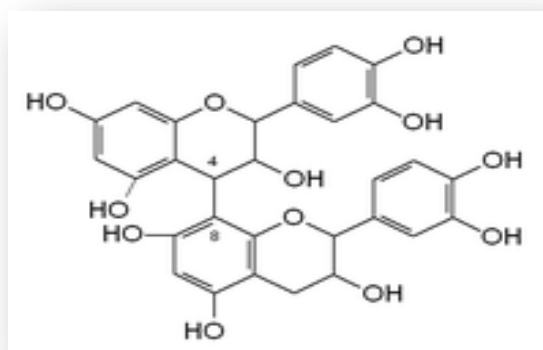


Figure N° 7 : Structure de tanins condensés.

c. Localisation et distribution :

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacées et les rosacées (**Ghestem et al, 2001**).

Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Van-Ree, 2001**).

d. Activités biologiques des tanins :

d.1. Effets bénéfiques des tannins :

Les tanins peuvent exercer des effets nutritionnels bénéfiques chez les ruminants qui en consomment des taux modérés. Plusieurs études suggèrent que la présence des tanins condensés à un seuil inférieur à 6% est avantageuse et induit une amélioration des performances animales, croissance et rendement en viande et en lait (**Barry et al, 1986**).

La précipitation des protéines par les tanins protège les microorganismes du rumen de leurs effets délétères. Elle permet également le recyclage de l'urée par la diminution de la concentration d'ammoniac dans le rumen. Elle participe également à l'activité antidiarrhéique (Les tannins vont imperméabiliser les couches externes de la peau et des muqueuses et surtout la muqueuse intestinale), en protégeant les organes digestifs des attaques nuisibles. Les tanins ont également un pouvoir cicatrisant car ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle (**Brunet, 2008**).

d.2. Effets toxiques :

Chez l'homme cette toxicité est mal connue. Chez les animaux, on peut observer une intoxication du bétail par ingestion de jeunes feuilles de chêne. La toxicité des tanins se manifeste à trois niveaux : l'ingestion, la digestibilité et le microbioteruminal. Cette toxicité varie en fonction des tanins ingérés et de la tolérance de l'animal qui à son tour, dépend de certaines caractéristiques telles que la nature du tractus digestif, le comportement alimentaire, la taille, l'âge et les mécanismes de détoxification (**Rira, 2010**).

2.2. Les alcaloïdes :

2.2.1. Définition :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes (**Boutaghane, 2013**).

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (**Rakotonanahary, 2012**).

2.2.2. Structure des alcaloïdes :

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (**Cyril, 2001**).

2.2.3. Classification des alcaloïdes :

On divise les alcaloïdes en trois genres :

2.2.3.1. Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**).

2.2.3.2. Les pseudo-alcaloïdes :

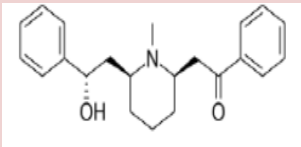
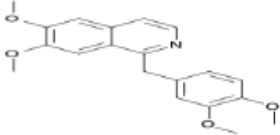
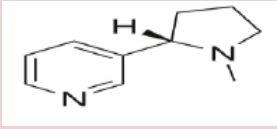
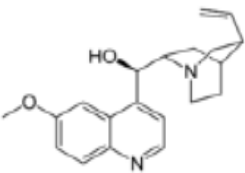
Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011**).

Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (**Rakotonanahary, 2012**).

2.2.3.3. Les proto-alcaloïdes :

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (**Badiaga, 2011**).

Tableau N° 2 : Classification des alcaloïdes (Mauro, 2006 ; Wilhelm, 1998).

| Les dérivés des alcaloïdes | Exemple |
|---|---|
| Alcaloïdes dérivés de la lysine. | <p>la lobéline :</p>  |
| Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine. | <p>La papavérine :</p>  |
| Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique. | <p>La nicotine :</p>  |
| Alcaloïdes dérivés du tryptophane | <p>La quinine :</p>  |

2.2.4. Effet pharmacologique :

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine , acide γ aminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine.

D'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (résérpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**).

2.3. Les composés Terpénoïdes :

2.3.1. Définition :

Le terme Terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des Terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.).

Ce sont des substances du métabolisme secondaire qui dérivent des Isoprénoïdes dont certains interviennent dans la photosynthèse, ainsi que plusieurs hormones végétales sont de structure Terpénique. Ce sont des produits hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaînes ouverte formées de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-Méthyle butadiène, appelées unités isopréniques (**Hopkins, 2003**).

2.3.2. Structure des Terpénoïdes :

Tous les composés de ce groupe prennent naissance à partir d'unités en 5 Carbones (isoprènes) est une chaîne hydrocarbonée insaturée. Cette dernière est ensuite modifiée secondairement par oxydation, par réduction ou par élimination de « C » (**Simic et al, 1997**).

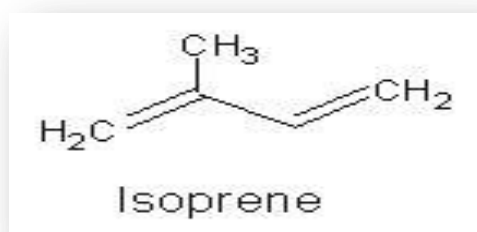
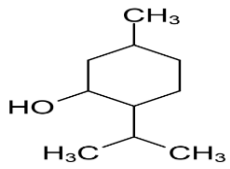
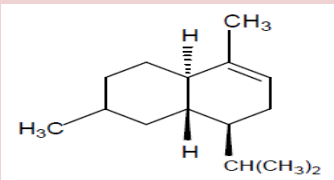
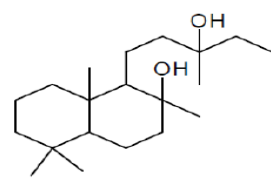
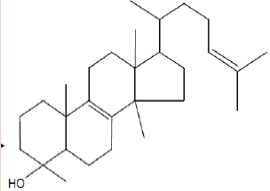
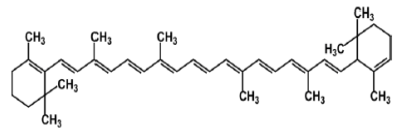


Figure N° 8 : Structure de base des terpénoïdes.

2.3.3. Classification des terpénoïdes :

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène. De ce fait les terpènes sont classifiés comme suit:

Tableau N° 3 : Quelques exemples des différents types de terpenoïdes (Belbache, 2003).

| Terpènes | Unités isoprénique | Atomes de carbone | Exemple |
|----------------|--------------------|-------------------|--|
| Hemiterpene | 1 | C5 | Isoprène |
| Monoterpènes | 2 | C10 | Menthol :  |
| Sesquiterpènes | 3 | C15 | β -Cadinène :  |
| Diterpénoïdes | 4 | C20 | Sclaréol :  |
| Triterpène | 6 | C30 | Lanostérol :  |
| Tetraterpène | 8 | C40 | Caroténoïdes :  |
| Polyterpène | >8 | >40 | Caoutchouc |

2.3.4. Répartition et localisation des terpènes:

Les terpènes ont été isolés chez les champignons, des algues marines, des insectes et des éponges, mais la plus grande partie de ces substances est retrouvée dans les plantes (**Malecky, 2005**).

Les terpènes sont trouvés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines. La synthèse des terpènes est généralement associée à la présence de structures histologiques spécialisées, localisées en certains points des autres tissus, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Mopikins, 2003**).

2.3.5. Activités biologiques :

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

Chapitre III :

Stress oxydant

Chapitre III : stress oxydant.

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (**Meziti, 2007**).

I. Stress oxydatif :

1. Définition :

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (**Haïoun et Hamoudi, 2015**).

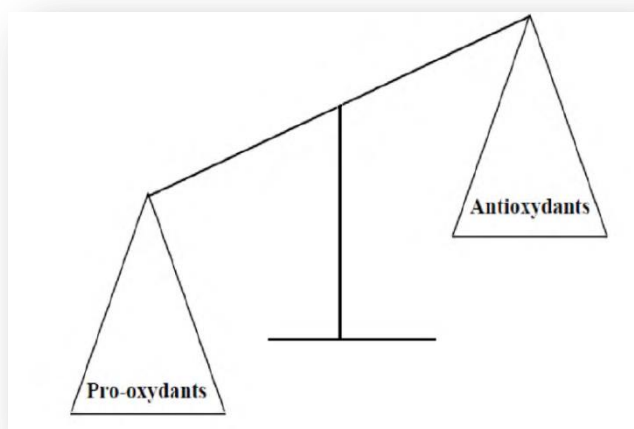


Figure N° 9 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux (**Figure 9**), l'excès de ces radicaux est appelé stress

oxydant (**Favier, 2003**). Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma et al, 1999**).

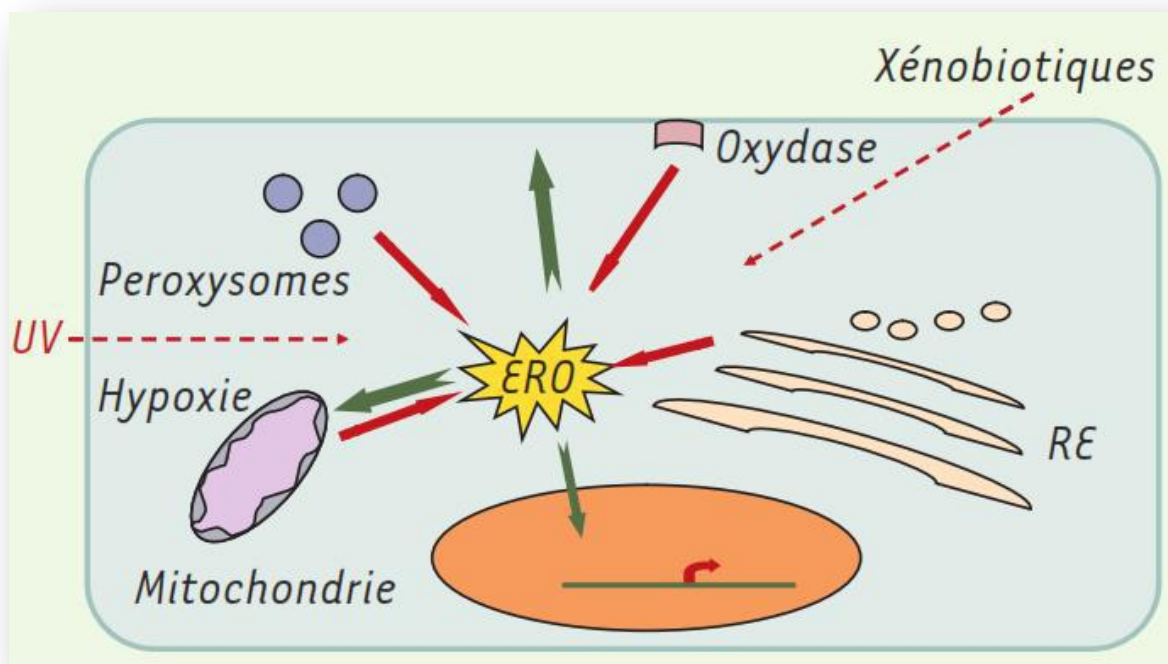


Figure N° 10 : Schéma du Stress oxydants (**Barouki, 2006**).

II. Les radicaux libres :

1. Définition :

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO) (**Haioun et Hamoudi, 2015**).

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables, leur structure

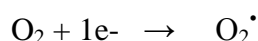
comprend un électron célibataire qu'il cherche à apparier en attaquant et en endommageant les molécules voisines.

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), peroxydinitrite (ONOO⁻) (**Haton, 2005**).

2. Les principales espèces réactives de l'oxygène :

2.1. L'anion superoxyde :

L'anion superoxyde est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d'oxygène. Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires (**Wolin, 1996**). L'O₂^{•-} peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes (**Favier, 2003**).

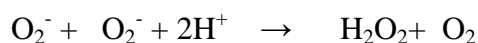


2.2. L'oxygène singulet :

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Delattre et Bonnefon, 2005**).

2.3. Le peroxyde d'hydrogène :

Le peroxyde d'hydrogène peut être obtenu soit par oxydation soit par des mutations. Celui-ci réagit avec le fer, composé pouvant être toxique pour les cellules. Ainsi le peroxyde d'hydrogène participe à un mécanisme de protection.

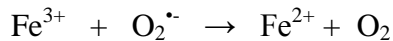


2.4. Le radical hydroxyle :

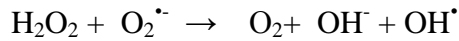
Le plus important des produits est le radical hydroxyle (OH[•]). C'est une espèce oxygénée très réactive qui provient de la coexistence de l'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le fer (forme ferreux) et produit du fer oxydé (forme ferrique) et le radical hydroxyle. C'est la réaction de Fenton.



Ensuite le fer ferrique est réduit en fer ferreux par l'anion superoxyde principalement.

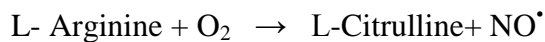


L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss.



2.5. Le monoxyde d'azote :

L'oxyde azotique NO• est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH.



2.6. Nitrique dioxyde NO₂• :

Formé à partir de la réaction du radical pyroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

2.7. Le peroxyde nitrite:

Le monoxyde d'azote par concomitance avec un ion superoxyde va entraîner la formation de peroxyde nitrite (ONOO) qui est hautement cytotoxique. Cette réaction est surtout retrouvée au niveau des vaisseaux sanguins.



3. Sources et formation des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène par le biais de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène, provoqués par plusieurs sources chimiques et physiques.

3.1. Origine endogène :

Aux doses faibles, les ROS sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que :

- ✓ La chaîne respiratoire.
- ✓ La réaction immunitaire.

- ✓ La transduction de signaux cellulaires.
- ✓ Les NADPH oxydases.
- ✓ Les oxydes nitriques synthases.
- ✓ Autres sources endogènes.

3.2.Origine exogène :

Des facteurs environnementaux peuvent contribuer à la formation d'entités radicalaires. Une production importante des ROS est observée lors d'une intoxication par des métaux lourds (cadmium, mercure, arsenic) ou dans les phénomènes d'irradiations provoquant des dommages au niveau de l'ADN. Par ailleurs la fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P450 (**Favier, 2003**).

4. Conséquences du stress oxydant :

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Ces ROS attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

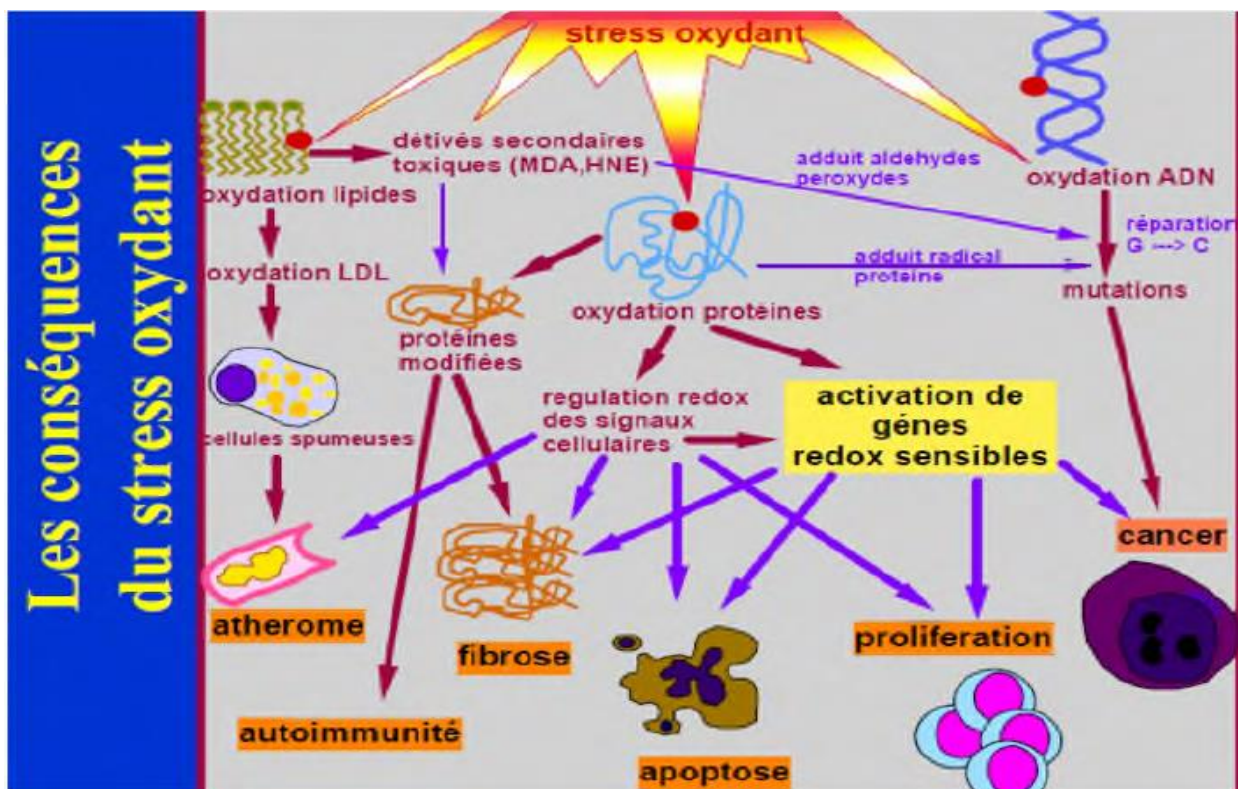


Figure N° 11 : Les conséquences du stress oxydant.

III. Système de défenses antioxydants:

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, résultant du métabolisme aérobie, appelés antioxydants (Huemer et al, 2006).

1. Définition :

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, a concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

L'organisme possède un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l'organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (Mohammedi, 2006).

2. Les principaux antioxydants :

2.1. Les antioxydants endogènes :

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (La superoxyde dismutase, La catalase, hème oxygénase, peroxyrédoxine,...), de molécules antioxydants de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone,...) et de protéines (transferrine, ferritine,...).

Un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxy-protéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Pincemail et al, 2002**).

2.2. Les antioxydants exogènes :

✚ Médicaments :

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants.

✚ Antioxydants naturels :

- La vitamine C ou acide ascorbique : C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.
- La vitamine E ou tocophérol : Prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en capturant les radicaux peroxydes.
- Les flavonoïdes : Les relations entre les structures et les activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.
- Les tanins : Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.
- Les phénols : Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Diallo, 2005**).



Partie II :
Etude
expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

Chapitre I : Matériels et méthodes

I. Matériel :

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des graines de l'espèce *Lepidium sativum*. Les grains ont été achetées en février 2016 de la région de Daksi Constantine, les graines ont été séchées dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires puis broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (**Figure N° 12**).



Figure N° 12 : *Lepidium sativum* en poudre.

2. Matériel animal :

Les 13 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats femelles de souche *wister* albinos, pesant entre 100 et 135g. Issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'université des frères Mentouri de Constantine, les rats sont logés dans des cages en polypropylène avec un accès libre à la nourriture et à l'eau.

II- Méthodes :

1. Préparation des extraits :

La méthode d'extraction que nous avons utilisée est la macération successive par le méthanol.

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner un corps solide dans un liquide ou dans un milieu humide, pour extraire certains principes actifs de ce corps.

1.1. Le principe :

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneur sont extrêmement variables d'une espèce à l'autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la caractérisation de ces molécules.

1.2. L'objectif :

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans les graines de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

1.3. Protocole d'extraction :

Une quantité de 150 g du matériel végétal broyé est macérée dans une solution de méthanol/eau (70 : 30, V/V) pendant 24h à l'ombre et à température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois avec filtration du macérât sur un papier filtre et renouvellement du solvant chaque 24h, ce qui permet d'extraire le maximum de produits.

Après filtration, le mélange hydro-alcoolique est concentré à sec au moyen d'un évaporateur rotatif à une température 40 °C et vitesse de rotation : 3 (Madi, 2010). (Figure N° 14).

Un évaporateur rotatif est un appareil de laboratoire utilisé généralement en chimie organique pour évaporer rapidement des solvants après avoir été utilisés dans une extraction. Ou dans un milieu réactionnel. Le plus souvent, l'évaporation du solvant est menée sous pression réduite (afin d'accélérer l'étape) que l'on obtient au moyen d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide. L'évaporateur rotatif est souvent appelé, par abus de langage, Rotavaporou "Büchi" (noms de deux marques très courantes) (Figure N° 13).



Figure N° 13 : Un évaporateur rotatif.

Chapitre I : Matériels et méthodes

Les extraits réalisés sont ensuite stockés à température -4°C , à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

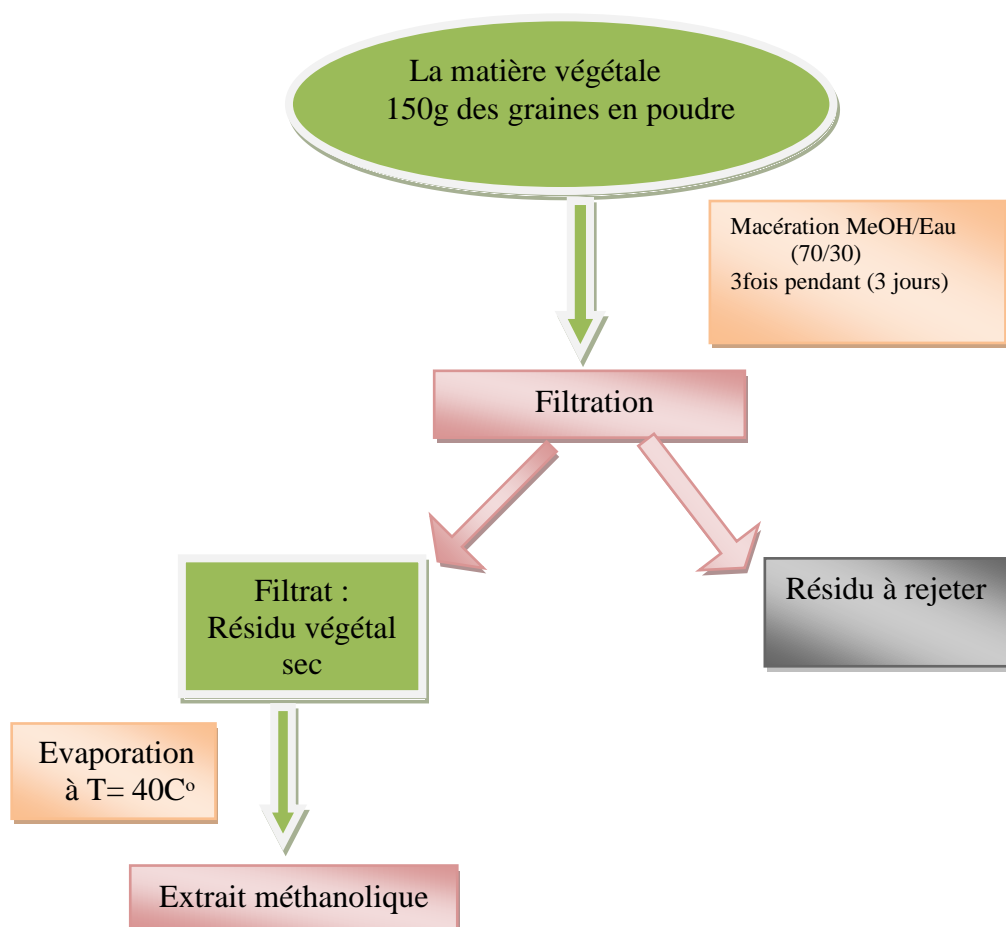


Figure N° 14 : Schéma d'extraction par les solvants organique.

2. Screening phytochimique de l'extrait végétal :

Ce terme screening, correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels.

Les essais chimiques de caractérisation ont porté sur la recherche dans les différents extraits des principaux groupes chimiques. Ces essais permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique, ces caractérisations ont été faites en utilisant principalement les réactions en tube, les résultats sont classés en :

- (+): test faiblement positif.
- (-): test négatif.

- (++): test positif.
- (+++): test fortement positif.

2.1. Test des quinones libres :

Un gramme de matériel végétal sec finement broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, l'extrait est filtré et concentré au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Dahou et al, 2003**).

2.2. Test des tanins :

1,5 g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajout de FeCl₃ 1% permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Dahou et al, 2003**).

2.3. Test des saponines :

Test de la mousse : l'extrait est repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable, persistant pendant 15min, indique la présence des saponines (**Yves-Alain.Bekro, 2007**).

2.4. Test des flavonoïdes :

Un mélange de quelques copeaux de Mg⁺² et de gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2ml d'extrait. L'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (**Najjaa et al, 2011**).

2.5. Test des phénols :

2ml de l'éthanol est ajouté à 2 ml de l'extrait, L'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ permet l'apparition d'une coloration qui indique la présence des phénols (**Iqbal Hussain et al, 2011**).

2.6. Test des stérols ou triterpènes :

L'extrait de l'éther de pétrole est dilué dans 2ml d'anhydride acétique. L'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une coloration violette qui indique la présence de triterpènes, ou une coloration verte qui indique la présence de stérols (**Koffi et al, 2009**).

2.7. Test des flavonoïdes glycosides :

1ml d'hydroxyde de potassium KOH à 1% est ajouté à 2ml de l'extrait dilué dans le méthanol. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides (Iqbal Hussain *et al*, 2011).

3. Caractérisation quantitative des extraits :

3.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu) :

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune 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 et demolybdène (Ribéreau, 1968).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. 200 μ l de l'extrait dilué est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 4 minutes, 800 μ l de carbonate de sodium à concentration de 7,5% sont ajoutés, puis ajusté le volume à 3 ml avec l'eau distillée (Figure N° 15).

Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance est mesurée à 765 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 - 1 μ g/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage (les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EAG / gE).



Figure N° 15 : Matériel du dosage de polyphénols.

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium :

La détermination de la teneur en flavonoïdes de l'extrait de *Lepidium sativum* est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Djeridane et al, 2006 ; Bahorum, 1997). 1ml d'extrait a été ajouté à 1ml d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) Après 10 min d'incubation à 37°C et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430nm. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage $y= ax+b$ établie avec la quercitrine à différentes concentrations (0-1 $\mu\text{g/ml}$, chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait servira à la quantification des flavonoïdes (Figure N° 16). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/gE).



Figure N° 16 : Matériel du dosage des flavonoïdes.

4. Les activités biologiques in vitro :

4.1. Le pouvoir réducteur(PR) :

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Yildirim et al, 2001** où: 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 2 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 2 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000rpm pendant 10 min. 2 ml du surnageant sont ajoutés à 2,5 ml d'eau distillée et 2ml d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3, 6H_2O$) à 0.1% (**figure N° 17**) La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

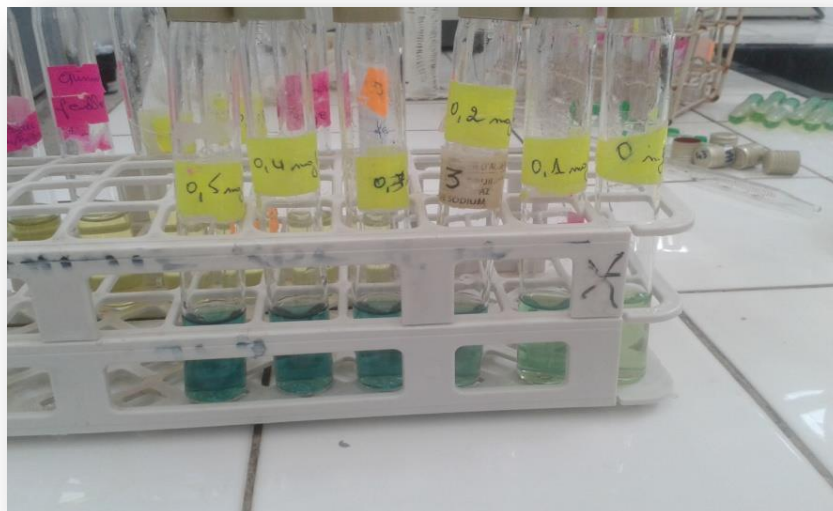
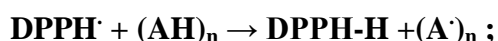


Figure N° 17 : Matériel du pouvoir réducteur.

4.2. Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) :

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où $(\text{AH})_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

Un volume de 100 μl de chaque extrait (avec dilution convenable) est incubé (30min) avec 2ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM). Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées (**Figure N° 18**).

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti radicalaire} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

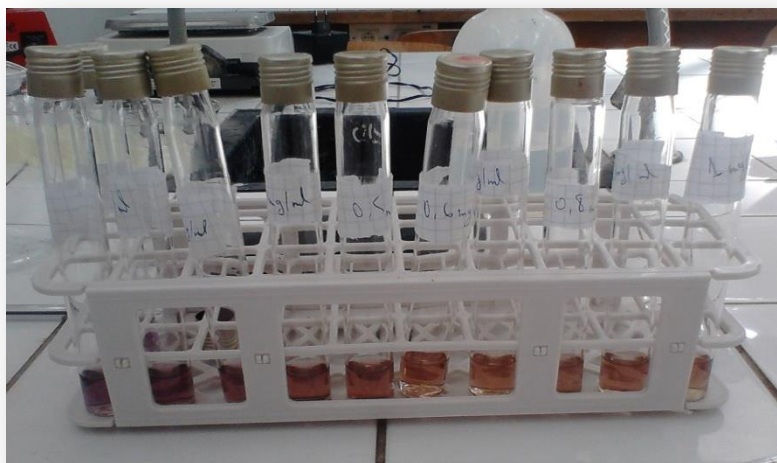


Figure N° 18 : Matériel du l'activité antioxydante par DPPH.

Calcul des IC50 :

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées à partir de l'équation des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait testé et le standard (**Bouras et Houchi, 2013**).

5. Activité biologique in vivo :

5.1. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion)

Les expériences ont été réalisées sur un modèle de douleur induit par l'acide acétique chez des rats mis à jeun 16 heures avant l'expérimentation. L'injection intra-péritonéale d'acide acétique à 1% chez le rat provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale.

Le nombre d'étirements est comptabilisé 20 minutes après injection de l'acide acétique (**Sy et al, 2009**).



Figure N° 19 : Injection intra-péritonéale d'acide acétique à 1% chez le rat.

- ✓ Lot témoin : Les rats de ce lot reçoivent 1ml de l'eau physiologique par voie *ip*.
- ✓ Lot référence : Les rats de ce lot reçoivent un analgésique utilisé en thérapeutique le paracétamol à la dose de 200 mg/ kg 30 minutes avant l'injection *ip* de l'acide acétique.
- ✓ Les lots essais : Les rats reçoivent, par voie *ip* 0,5ml de l'extrait méthanolique de *Lepidium sativum* à raison de 250, 500 et 750mg/kg, et ceci 30 minutes avant l'injection de l'acide acétique.

Le pourcentage d'inhibition des crampes est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition des crampes} = (NCTe - NCTr) / NCTe \times 100$$

Avec :

NCTe : nombre moyen des contorsions dans le lot témoin.

NCTr : nombre moyen des contorsions dans le lot traité.

Chapitre II :
Résultats et
discussions





Chapitre II : Résultats et Discussion




1. Screening phytochimique :

Ce teste consiste à détecter les différents composés chimiques existants dans les graines de *Lepidium sativum* par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de quelques métabolites secondaires.

Le screening phytochimique effectué a permis d’obtenir les résultats suivants (**tableau N°4**):

Tableau N° 4 : Résultats du criblage phytochimique des graines de *Lepidium sativum*.

| Le composé chimique | | Présence/Absence dans le matériel végétal | Résultat |
|---------------------|-------------|---|---|
| Quinones libres | | - |  |
| Tanins | condensés | - |  |
| | catéchiques | +++ | |
| Saponines | | + |  |
| Flavonoïdes | | ++ |  |

| | | | |
|---------------------------------|-------------|-----|--|
| Phénols | | +++ |  |
| Stérols, triterpènes | stérols | +++ |  |
| | triterpènes | - | |
| Flavonoïdes glycosides | | +++ |  |

- (+) : test faiblement positif
- (-) : test négatif
- (++) : test positif
- (+++) : test fortement positif

Ce tableau montre que les graines de *Lepidium sativum* renferment des flavonoïdes, des phénols, des tanins catéchiques, des flavonoïdes glycosides, stérols et des saponines. Cette plante est toutefois dépourvue de tanins condensés, des triterpènes et des quinones libres.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Lepidium sativum* ont démontré la présence des saponines, tanins condensé, flavonoïdes, phénols, stéroïdes et flavonoïdes glycosides et l'absence des triterpènes (**Berehe et Boru, 2014**) et ceci concorde avec les résultats obtenus dans notre travail.

De même les résultats réalisés par (**Hussain et al ,2011**) ont montré que *Lepidium sativum* contient les flavonoïdes, saponines, tanins et les phénols.

2. Dosage spectrophotométrique :

2.1. Teneur en polyphenols totaux :

Afin de caractériser l'extrait préparé à partir des graines de *Lepidium sativum*, la quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations.

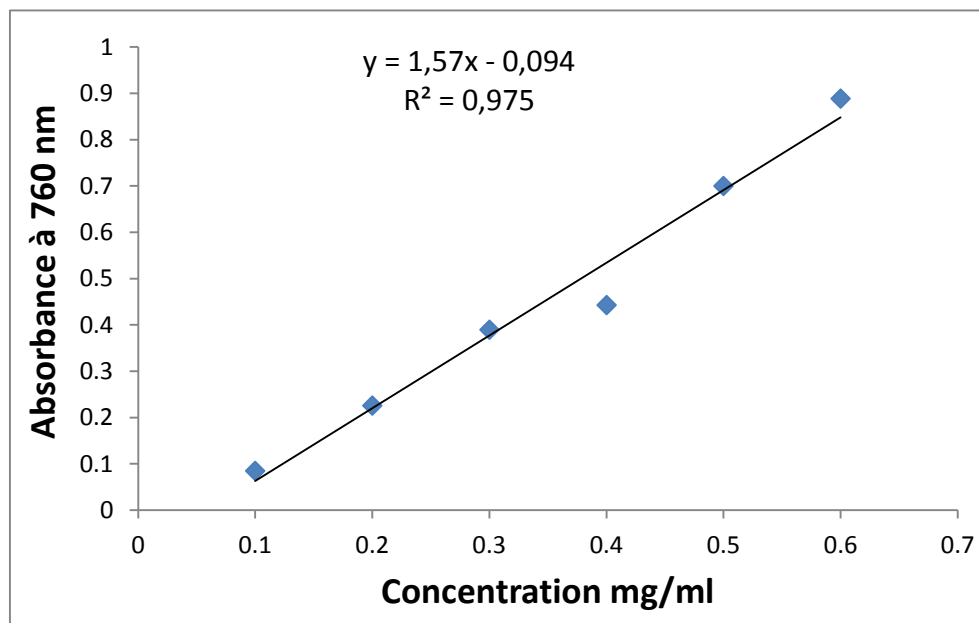


Figure N° 20 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité des polyphénols correspondante à l'extrait étudié a été rapportée en milligramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (**tableau N° 5**).

Tableau N° 5 : Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique

| Echantillon dosée | Teneurs en phénols totaux (mg d'acide gallique/mg extrait) |
|--|---|
| L'extrait méthanolique de <i>Lepidium sativum</i> | 2,108 |

Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques est 2.108 mg d'acide gallique/mg d'extrait. La teneur en polyphénols est relativement grande dans notre extrait.

Le résultat que nous avons obtenus est inférieur à cet obtenu par **Yadav et al, (2011)** où ils ont trouvé un teneur égale à 3,46 mg GAE/mg d'extrait. Cette différence observée peut s'expliquer par la provenance géographique, le degré de maturité et la durée de stockage.

Les travaux conduits par **Jency Malara et al, (2014)** et **Iqbal Hussain et al, (2011)** confirment nos résultats en indiquant que l'extrait de la plante *Lepidium sativum* est riche en polyphénols totaux.

2.2. Teneur en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par **Bahorun et al, (1996)**. La quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de la plante qui est exprimée en mg équivalent de la quercétine (EQ) par gramme d'extrait (**Figure N° 21**).

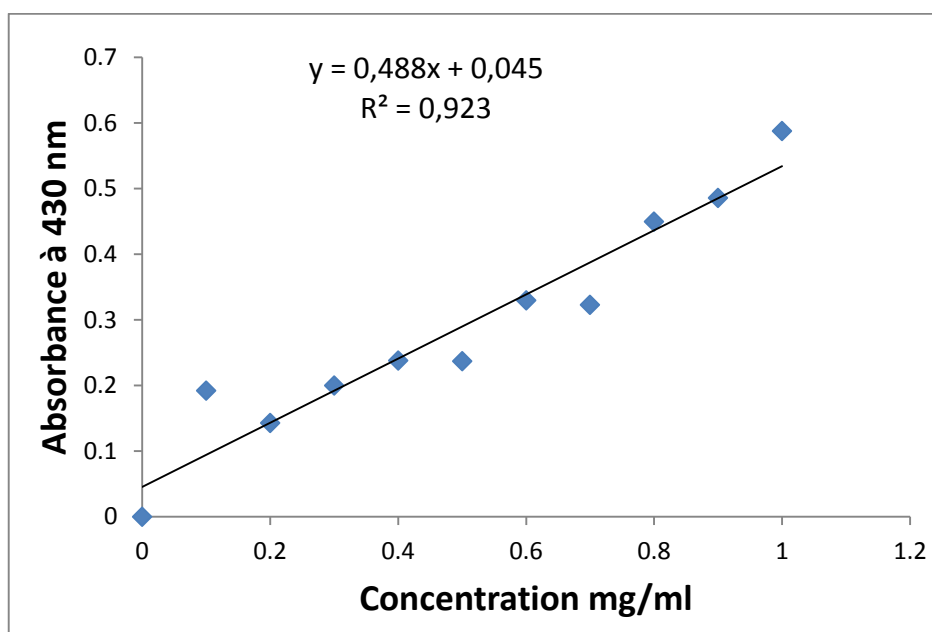


Figure N° 21 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

Le résultat de la teneur en flavonoïdes de l'extrait étudié est présenté dans le tableau suivant:

Tableau N° 6 : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique.

| Echantillon dosée | Teneurs en flavonoïde (mg de quercetine/ g d'extrait) |
|---|--|
| Extrait méthanolique <i>Lepidium sativum</i> | 840,16 |

La teneur en flavonoïdes de l'extrait de *Lepidium sativum* étudié est égale à 840.16 mg EQ/g d'extrait.

Les résultats obtenues par **Jency Malara et al, (2014)** et **Iqbal Hussain et al, (2011)** sont conformes avec notre résultat et confirment la richesse de la plante étudiée en flavonoïdes.

Les résultats trouvés dans les travaux de **Yadav et al, (2011)** ; ont montré que la teneur des flavonoïdes dans l'extrait des graines de *Lepidium sativum* est de l'ordre de 1,572 mg QE/mg d'extrait. Mais cette teneur apparaît supérieure par rapport à notre résultat. Cette différence trouve probablement son explication dans la différence de la méthode d'extraction utilisée.

3. Activité antioxydant :

3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante d'extrait méthanolique de *Lepidium sativum* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a 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.

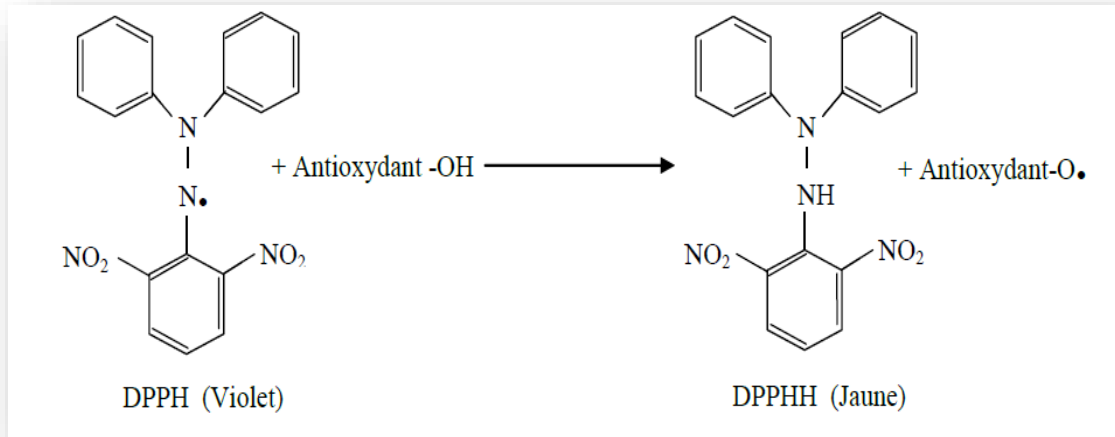


Figure N° 22 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

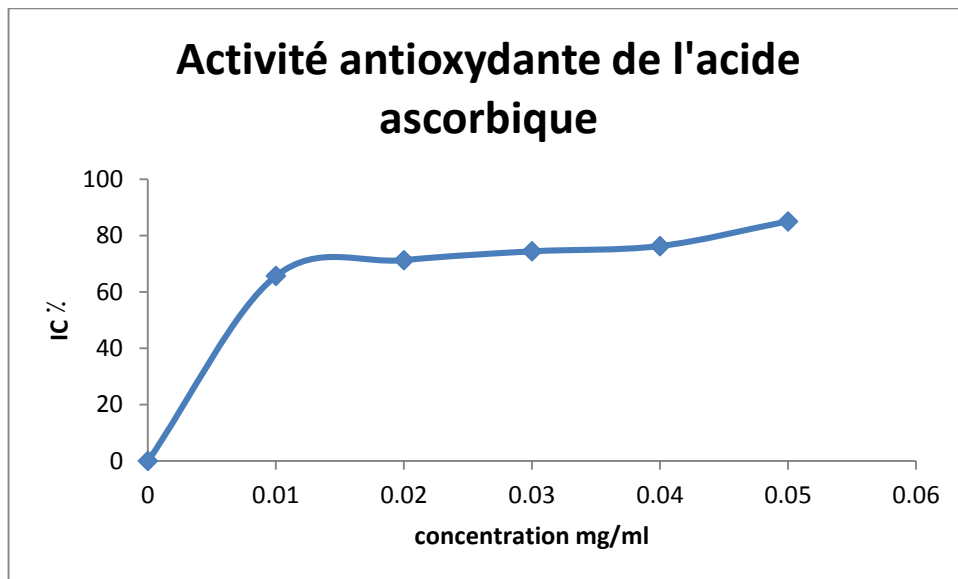


Figure N° 23 : % d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

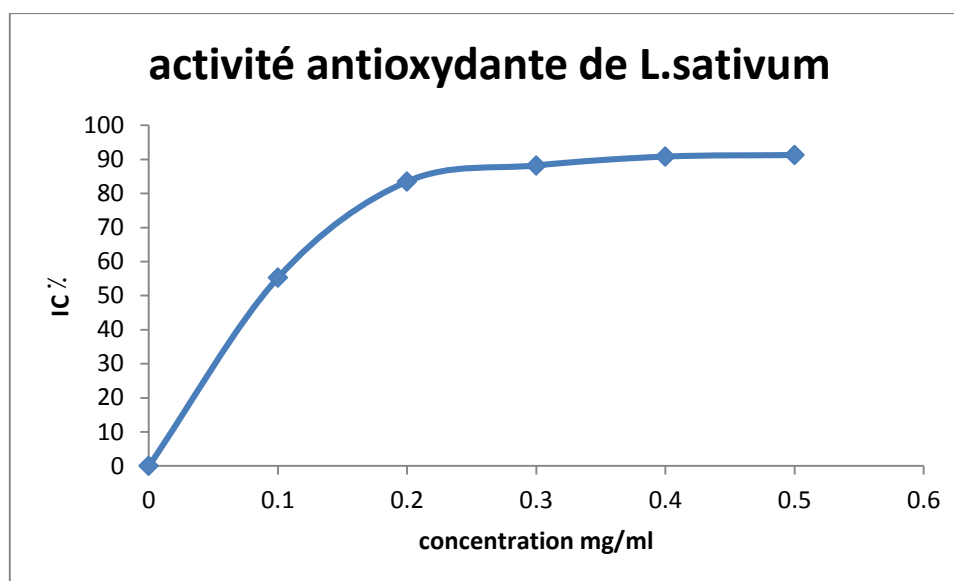


Figure N° 24 : % d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence de l'extrait de la plante est inférieur à celle de l'acide ascorbique.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC50.

✚ Evaluation de l'IC50 :

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (**Pokorny et al, 2001**). La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

- Les valeurs des IC50 trouvées pour les deux extraits testés sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau N° 7 : Les valeurs des IC50 des extraits testés.

| L'échantillon | IC50 (mg/ml) |
|-------------------------|--------------|
| Acide ascorbique | 0,015 |
| <i>Lepidium sativum</i> | 0,137 |

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus de l'activité antiradicalaire de l'extrait des graines de *Lepidium sativum*, montrent que l'extrait testé possède une activité antiradicalaire avec un IC50% de l'ordre de 0,137mg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un IC50%= 0,015mg/ml, nous constatons que notre extrait est moins actif par rapport au standard.

Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Indumathy** et ses collaborateurs en **2013** sur l'extrait de graines de *Lepidium sativum*.

Les graines de *Lepidium sativum* ont fait l'objet de nombreux travaux dont les résultats sont variables. Les travaux d'**Yadav et al, (2011)** ; **Malara et al, (2014)** et **Rizwan et al, (2015)** présentent des valeurs respectives d'IC50%= 18,46µg/ml, 0,429mg/ml et 62µg/ml. Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique de l'extrait ainsi que sur leurs activités biologiques.

Des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al, 2009** ; **Locatelli et al, 2010** ; **Halmi, 2015**).

3.2. Test de la réduction du fer FRAP :

L'activité antioxydante d'extrait méthanolique de *Lepidium sativum* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux.

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe³⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm.

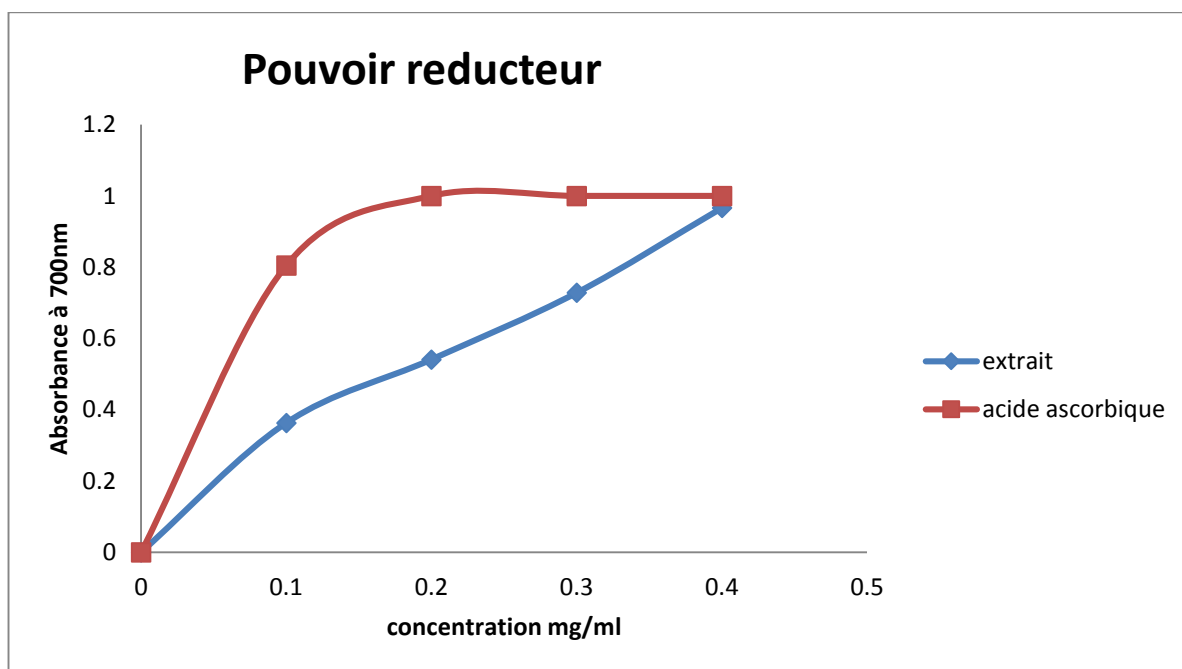


Figure N° 25 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Lepidium sativum* et l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus dans la **Figure N° 25** montrent que la capacité de la réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. L'extrait de la plante présente une activité antioxydante nettement inférieure à celle du produit de référence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,2 mg/ml.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Malara et al, (2014)** et **MohdMujeeb et al, (2015)** sur les extraits de *Lepidium sativum*.

En générale, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols (**Ferreira et al, 2007**), ce qui explique le potentiel réducteur de l'extrait *Lepidium sativum* riche en polyphénols.

4. Etude de l'activité analgésique (Test de torsion):

Le criblage de l'effet analgésique est réalisé par le test de l'acide acétique, très répandu pour sa haute sensibilité et sa capacité de mettre en évidence les molécules aussi bien à effet périphérique que central. On injecte une solution d'acide acétique à 1% par voie *ip*, 5

Chapitre II : Résultats et discussions

min après, on compte pour chaque rat le nombre de contorsion (NC) sur une durée de 20 minutes.

Le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique présente après injection intrapéritonéale de l'acide acétique à 1%, une moyenne de contorsions de 79 ± 12 (**Tableau N°8**).

L'administration par intrapéritonéale de Paracétamol à la dose de 200 mg/kg, présente un nombre de contorsions qui est égale à 20 ± 2 lié à l'administration de l'acide acétique (**Tableau N° 8**).

Après l'administration de l'acide acétique et l'extrait de *Lepidium sativum* à différentes concentrations 250, 500 et 750 mg/kg respectivement par voie *ip*, le nombre de contorsions a été enregistré dans le **tableau N° 8**.

Tableau N° 8 : Etude de l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de *L.sativum* à l'acide acétique.

| Dose | Nombre des crampes | Pourcentage d'inhibition |
|---------------|--------------------|--------------------------|
| Témoin | 79 ± 12 | - |
| Dose 250mg/kg | $63 \pm 16,30$ | 20,25% |
| Dose 500mg/kg | $59\pm 15,64$ | 25,31% |
| Dose 750mg/kg | $22\pm 3,29$ | 72,15% |
| Paracétamol | 20 ± 2 | 74,68% |



Figure N° 26 : Le rat avec une crampe.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Lepidium sativum* présente un effet analgésique en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses. Ceci suggère que l'extrait posséderait des composés qui agiraient selon le même mécanisme que le paracétamol, et par ce fait, inhiberait la COX-1 et la COX-2, empêchant la synthèse des prostaglandines (**Le Bars et al, 2001**).

A l'issue de ces résultats, il ressort que l'extrait méthanolique de *L.sativum* posséderait des propriétés analgésiques. Des résultats similaires ont été obtenus par **MA Al-Yahya et al, (1994)** et **N.D, Raval et B.Ravishankar, (2010)**.

**CONCLUSION
GENERALE**

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, une plante aromatique *Lepidium sativum* a fait l'objet d'une étude phytochimique de leur extrait et d'une évaluation de leur potentiel antioxydant.

Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, tanins, stérols, triterpènes et des phénols.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans l'extrait analysé montre qu'il est riche par ces métabolites. La teneur en polyphénols est égale à 2,108 mg d'acide gallique/mg d'extrait, et pour les flavonoïdes la teneur est égale à 840,16 mg de quercetine/g d'extrait.

L'activité antioxydante in vitro est aussi étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) et la méthode de réduction du fer (FRAP); chacune cible un mécanisme d'action des antioxydants.

Les deux tests ont montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Selon les résultats obtenus du test de l'effet scavenger du radical DPPH, les l'extrait méthanolique testé jouie d'un potentiel antiradicalaire appréciable surtout avec un IC50 de 0,137mg/ml.

Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique a été évalué et représenté par les absorbances notées, on a enregistré 0,96 à la concentration 0.5 mg/ml, mais cette valeur est inférieur à l'acide ascorbique qui s'est élevé à 1 à 0,5 mg/ml.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'extrait testé de la plante (*L.sativum*) est pourvue d'une activité antioxydante modérée. Néanmoins, cette activité reste bien inférieure aux antioxydants des standards utilisés.

Conclusion Générale

L'activité analgésique a été déterminée sur 13 rats, selon le test de torsion, Les résultats indiquent que l'extrait possède une activité analgésique.

En perspectives, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d'une part les composés des graines de *Lepidium sativum* (notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets antioxydants.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques :

« A »

Abuelgasim AI ; Nuha HS ; Mohammed AH, 2008 : Research Journal of Animal and Veterinary Sciences, 3, p20-23.

Ahmed A.A ; El-Moghazy S.A ; El-Shanawany M.A ; Abdel-Ghani H.F ; Karchesy J ; Sturtz G ; Dalley K ; Pare P.W. J, 2004 : Nat. Prod, 67, 1705–1710.

Aouadhi Samia, 2010 : Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes (TUNISIE).

Ardestani.A; Yazdanparast.R, 2007: Antioxidant and free radical scavenging potential of Achilleasantolina extracts, Food chemistry. 104 (1) : 21-29.

Aruoma.O ; PhD ; Dsc ; Mba ; Frsc, 1999 : Free radicals, antioxidants and international nutrition, Asia Pacific J ClinNutr. 8(1): 53-63.

« B »

Badiaga.M, 2011 : Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

Bahorun.T ; Grinier.B ; Trotin.F ; Brunet.G ; Pin.T ; Luncky.M ; vasseur.J ; Cazin.M ; Cazin.C et Pinkas.M, 1996 : Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations .Arzneimittel-Forschung, 46(11):1086-1089.

Bahorun.T, 1997 : Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias, p83-94.

Balasubramaniana.A et Vasanthie.K, 2014 : Antioxidative activity of different parts of the plant Lepidium sativum Linn.

Barouki.R, 2006 : Stress oxidant et vieillissement, MEDECINE/SCIENCES. 22: 266-272.

Barry.T ; Manley.T and Duncan.S, 1986: The role of condensed tannins in the nutritional value of Lotus pedunculatus for sheep 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. British Journal of Nutrition. p55, 123-37.

Références bibliographiques

- Belbache.H, 2003** : Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.
- Boros,B ; Jakabova.S ; Dorneyi.A ; Horvath.G ; Pluhar.Z ; Kilar.F ; Felinger.A, 2010**: Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217 : 7972–7980.
- Boudjellal.K, 2009** : Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L. Mémoire de Magister Université de Batna. p 9-29-30.
- Boudjouref.M, 2011** : Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif.
- Bougandoura.N, 2011** : Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthasspnepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p25-34-37.
- Bouakaz.I, 2006** : Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- Bouras.F ; Houchi.A, 2013** : Etude De L'activité Antioxydante de La Plantes *Rumex Vesicarius* L. Mémoire Master Académique. Page 28.
- Boutaghane.N, 2013**: Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Asteraceae). Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences. Université de Constantine 1. Page 11-58
- Brunet.S, 2008**: Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse (Dr. Pathologie et Nutrition), Toulouse : Université Paul Sabatier, 246 p.
- Bruneton.J, 1999** : Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales, Lavoisier Tec & Doc. Paris. 3Ed.
- Bruneton.J, 2009**: Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, (4e éd), revue etaugmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, p 1288 .

« C »

Cai.H ; Harrison.D.G, 2000 : Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *CircRes.* 87(10): 840-844.

Cyril.T, 2001 : étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.

« D »

Dacosta.Y, 2003 : Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p.

Datta PK ; Diwakar BK ; Viswanatha S ; Murthy KN ; Naidu, 2011 : des études d'évaluation de sécurité KA Garden cress (*Lepidium sativum* L.) des graines chez le rat Wistar. *Int. App J.Res. Nat. Prod.*, 4 37- 43.

Delattre.B et Bonnefont.R, 2005 : Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC editionsmedicales internationales Paris. 1-405.

Diallo.A, 2005 : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.

Djeridan.A ; Yousfi.M ; Nedjmi.D ; Boutassouna.D ; Stoker.P ; Vidal.N, 2006 : Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. *foods chemistry*; 97; 654-660.

Docteur Pierrick Hordé, 2013 : Ce document intitulé « *Lepidium sativum* - Définition » issu de Journal des Femmes Santé (sante-medecine.journaldesfemmes.com), Réalisé en collaboration avec des professionnels de la santé et de la médecine.

Dohou.N ; Yani.K ; Thahrouch.S ; Idrissi Hassani.L.M ; Badoc.A ; Gmira.N, 2003 : Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides*. *Bull. Soc, Pharm. Bordeaux.*142:61-78.

« E »

Ehouan.E, 2007 : Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae).

« F »

Facciola S ; Cornucopia A, 1990 : Source Book des plantes comestibles; Kampong Publications: Vista, CA,USA.

Références bibliographiques

Favier.A, 2003 : Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. p108-115.

Ferrari J, 2002 : Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des Thymelaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle: Gnidiainvolucratastend. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne. P242. Ferreira et al, 2007.

Fleuriet A, 1982 : thèse doc. Etat, Montpellier.

« G »

Gauthuret.J, 1968 : Les composés phénoliques des végétaux. Université de Bordeaux. P 7-87-1234-133.

Ghestem.A ; Seguin.E ; Orecchioni.A.C, 2001: Le préparateur en pharmacie. 1ere ed. Médicales internationales. Paris. P90.

Grubben.G ; Denton.O ; Messiaen.M ; Schippers.R ; Lemmens.J, 2005 : Vegetables, Wageningen. Backhuys Publishers.

Guignard .J. L et Dupont.F, 2004 : Botanique systématique. Masson, Paris.13ième éd.

« H »

Haioun.A ; Hamoudi.F, 2015 : Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne Anethiumgraveolens et leur effet cardioprotectrice.

Haddouchi F ; Lazouni HA ; Meziane A ; Benmansour A, 2009 : Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de Thymus fontanesii Boiss & Reut. Afrique SCIENCE. 05(2): 246 – 259.

Halmi S, 2015 : Etude botanique et phytochimique.Approche biologique et pharmacologique d'Opuntia ficus indica. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri de Constantine.

Hanen Najjaa ; Sami Zouari ; Ingrid Arnault ; Jacques Auger ; Emna Ammar et Mohamed Neffati, 2011 : Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre Allium, Allium roseum L. et Allium ampeloprasum L.

Harborne.J et Williams.C, 2000: Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 55:481-504.

Haton.C, 2005 : Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.

Havsteen.B, 2002: The biochemistry and medical significances of the favonoids. Pharmacology therapeutique. 96: 317-322, 67-202.

Hopkins.G.W, 2003 : Physiologie végétale. Boeck université. 2ème édition.

Huemer.M ; Vonblon.K ; Fodinger.M, 2006 : Total homocysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. *Pediatr.Res.* 60: 764-769.

« I »

Iqbal Hussain ; Moneeb Ur Rehman Khattak ; Riaz ullah ; Zia Muhammad ; Naeem Khan ; Farhat Ali Khan ; Zahoor Ullah and Sajjad Haider, 2011 : Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakistan *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(6), pp. 746-750.

« J »

Jansen.P, 2007 : PROTA Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands.

Jency Malara ; K.Chairmanb ; AnitaR.J.Singhc ; J.ShifaVanmathid ;

Yves-Alain Bekro ; J.A.Mamyrbekova Békro ; B.B.Boua, Fézan.H ; TRA BI2 et Indumathy.A and Aruna.A, 2013 : *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 634-637.

« K »

Khanbabae.K ; Van-Ree.T, 2001 : Tannins: Classification and definition. *Nat Product Reports*, 16: 641-649.

Koehlin-Ramonatxo.C, 2006 : Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20: 165-177.

Koffi N ; Beugré K ; Guédé N.Z ; Dossahoua T ; Laurent A, 2009 : Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature.* Pp 1-15.

« L »

Laurnet.B, 2012 : initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales conservation du jardin botanique de la ville paris science végétales.

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 de l'université Mentouri de Constantine.

Le Bars D ; Gozarium M ; Cadden S.W, 2001 : Evaluation de la douleur aiguë chez l'animal d'expérience. Ed. Sci Med. Elsevier. Pp347-365.

Lee.Y.J ; Erdos.G ; Hou. Z ; Kim.S.H ; Kim.J.H ; Cho.J.M et Corry.P.M, 1994 : Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells. *Molecular and cellular biochemistry*. 137: 141-154.

Li .H.B ; Cheng.K.W ; Wong.C.C ; Fan.K.W ; chen.F ; Tian.Y, 2007 : Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102 : 771-776.

Locatelli M ; Travaglia F ; Coisson J.D ; Martelli A ; Stevigny C ; Arlorio M, 2010 :Total antioxidant activity of hazelnut skin (NocciolaPiemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*. Pp1647-1655.

« M »

MA Al-yahya ; JS Mossa ; M Ageel and S Rafatullah, 1994 : *Phytomedicine*, 1, p155 – 159.

Madi.A, 2010 : Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister Université de Constantine. p 12.

Maire .R, 1967 : La flore de l'Afrique du Nord. *Encyclopédie biologique*, Vol 12-13, Paris.

Malecky.M, 2005 : Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.

Mariod A.A ; Ibrahim R.M ; Ismail M ; Ismail N, 2009 : Antioxidant activity and phenolic content of phenolicrich fractions obtainedfrom black cumin (*Nigellasativa*) seedcake. *Food Chemistry*. Pp306-312.

Mauro.N. M, 2006 : Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

Mcrae, DW et Towers, GHN. (1984). Biological activities of lignans. *Phytochemistry*. 23(6): 1207 1220.

Merghem.R, 2009 : *Elément de biochimie végétale*. 1^{ère} édition.

Meziti.A, 2007 : Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigellasativa* L Étude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna. p 30-35-49-67.

Références bibliographiques

Midoun.T, 2011 : Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université KasdiMerbah Ouargla. 53p.

Mohammedi.Z, 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister.Tlemcen.

Mohammedi, 2011 : Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p 18-24-25-49-50.

Mouffok.S, 2011 : Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubes censssp. omphalotricha* (Asteraceae) Mémoire de Magister Université de Batna.

Muthu C ; Muniappan Ayyanar ; Nagappan Raja and Savarimuthu Ignacimuthu, 2006: Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India, 2:43.

« N »

ND Raval ; B Ravishankar, 2010 : An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda, 31 (3), p371-373.

« P »

Pincemail.J ; Bonjean.K ; Cayeux.K and Defraigne.J.O, 2002 : « Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant, Physiological action of antioxydant defences », Nutrition clinique et métabolisme, 16, 233-239.

Piquemal.G, 2008 : Les flavonoïdes (en ligne) : http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215

« R »

Rakotonanahary.M, 2012 : Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

Ribéreau-Garyon.P, 1968 : Les composés phénoliques des végétaux.Edition Dunod Paris, p 254.

Rizwan Ahamad ; Mohd Mujeeb ; Firoz Anwar ; Aftab Ahmad, 2015 : Phytochemical analysis and evaluation of anti-oxidantactivity of methanolicextract of *Lepidium sativum* L. seeds. Der Pharmacia Lettre, 2015, 7 (7) Pp427-434.

« S »

Sanchez-Moreno.C, 2002 : Méthods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International journal of foods Science and Technology, 8 : 121-137.

Simic.P ; Vukovic-Gacic.B ; Knezevic-Vukcevic.J ; Trninic.S ; Jankov.R.M, 1997 : Antimutagenic effect of terpenoids from sage (*Salvia officinalis*.L). Journal of environmental pathology, Toxicology and Oncology.

Singleton.V. L ; Rossi.J. A, 1965 : Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16 : 144-158.

Solomon Girmay Berehe and Aman Dekebo Boru, 2014 : Phytochemical Screening And Antimicrobial Activites Of Crude Extract Of *Lepidium sativum* seeds Grown in Ethiopia. IJPSR. Vol. 5(10). Pp 4182-4187.

Sy G.Y ; Fall A.D ; Diatta W ; Gueye M ; Badji Bassène E ; Faye B, 2009 : Analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous root extract of *Cassia sieberiana* D. C. (Caesalpinaceae) Afr. J. Pharm. Pharmacol. Pp 651-653.

« U »

Umezawa.T, 2003 : Diversity in lignan biosynthesis. *Phytochem. Rev.* 2(3): 371-390
Mueller et Harvey.I, (2006): Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* p91, 3-20.

« V »

Valnet.J, 2003 : Aromathérapie, 1ère édition, édition Vigot.

« W »

Wilhelm.N, 1998 : Botanique générale. 10ème Ed. De boeck. Paris, Bruxelles. 319p.

Wolin.M.S, 1996 : Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation.* 3:1-17.

« Y »

YC Yadav ; DN Srivastava ; V Saini ; AK Seth ; TK Ghelani ; A Malik ; S Kumar, 2011 : An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(3), p244-253.

Yildirim A ; Mavi A et Kara A, 2001 : Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Pp 411-420.

Références bibliographiques

Yusuf .Y, 2006: trends food sci. tech, 17, 64-71.

Site web :

- Central Naturel de Ressources Textuelles et Lexicales [En ligne].
[http://www.corttl.fr/definition /mac%A9ration](http://www.corttl.fr/definition/mac%A9ration). Consulté le: 10/06/2015.
- <https://jardinage.ooreka.fr/>
- Muséum national d'Histoire naturelle [Ed], 2003-2006 : Inventaire national du Patrimoine naturel, site Web : <http://inpn.mnhn.fr>. Document téléchargé le 22 avril 2009.

ANNEXES

Annexes

La préparation des solutions :

- ✓ Solution de ferricyanure de potassium K_3Fe à 1 % :

Mélanger 1ml de ferricyanure de potassium avec 100ml de l'eau distillée.

Donc : 2,5g \Rightarrow 250ml de H_2O

- ✓ Solution de TCA à 10% :

Mélanger 10g de TCA dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 25g \Rightarrow 250ml de H_2O

- ✓ Solution de $FeCl_3$ à 0,1% :

Mélanger 0,1ml de $FeCl_3$ dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 0,4g \Rightarrow 400ml H_2O

- ✓ Solution tampon phosphate à 0,2M et pH= 6,6 :

- Solution 1 : $Na_2HPO_4 \rightarrow 28,4g + H_2O$ pour compléter 1L.

Donc : 28,4g \rightarrow 1000ml

X= 7,1g \rightarrow 250ml

- Solution 2 : $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O \rightarrow 31,21g + H_2O$ pour compléter 1L.

Donc : 31,21g \rightarrow 1000ml

X= 7,8g \rightarrow 250ml

En fin, Phosphate buffer à 0,2M et pH= 6,6 est un mélange de solution 1 et solution 2 dont le volume 37,5ml et 62,5ml respectivement.

Caractérisation chimique et activités biologiques de l'extrait hydroalcoolique des graines de *Lepidium sativum*.

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

Résumé :

Lepidium sativum est une plante qui appartient à la famille Brassicaceae, qui recèle de multiples propriétés médicinales.

Notre travail a porté sur l'étude de l'extrait méthanolique de graines de *L.sativum*, le criblage phytochimique et les tests colorimétriques ont révélé la présence de quelques groupes chimiques (Flavonoïdes, Alcaloïdes, Coumarines ...etc) susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Les activités antiradicalaires ont été évaluées à travers deux méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer. D'après les résultats, l'extrait est doté d'un potentiel antiradicalaire et antioxydant modéré par rapport à l'antioxydant standard employé.

Les résultats de l'activité analgésique réalisée in vivo sur des rats indiquent que l'extrait méthanolique de cette plante possède des propriétés analgésiques périphériques.

Mots clés : Brassicaceae ; *Lepidium sativum* ; métabolite secondaire ; activité antioxydante ; activité analgésique.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. *HABIBATNI Zineb* (Maitre de conférences B - UFM Constantine),

Rapporteur : Dr. *HALMI Sihem* (Maitre de conférences B - UFM Constantine),

Examineur : Mme *MADI Aicha* (Maitre assistante A - UFM Constantine).

Date de soutenance : 20/06/2016