



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**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 Appliquée**

Intitulé :

---

Etude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de deux  
plantes : *Salvia officinalis* et *Drimia maritima*

---

**Présenté et soutenu par :** *Ghorabi Assia*

**Le :** 01/07/2018

*Cherouana Mounia*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** BAALI NACERA (MC-B-UFM Constantine).

**Rapporteur :** DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMIA (M-A-Constantine).

**Examineurs :** BAHI AHLEM (MC-B-UFM Constantine)

*Année universitaire*  
*2017 – 2018*

# Remerciements

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

*La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant DJEMAI ZOUGHELACHE SOUMIA maitre assistante A à UFM Constantine, Pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche et pour la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Nous tenons à remercier sincèrement les membres de jury : BAALI NACERA et BAHJ AHLEM pour leurs temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail et d'avoir aimablement accepté de présider ce jury*

*Nos remerciements s'étendent également à M REHAMNIA YACINE DOCTEUR de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine pour son précieux aide, ces conseils et son soutien durant la réalisation de ce travail.*

*Un remerciement particulier à Mme LAÏLA, pour son aide et ces conseils.*

*Nous adressons nos remerciements aux techniciens du laboratoire de Biochimie qui nous ont aidés à la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.*

*Merci à tous les membres de département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire.*

## *Dédicaces :*

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

*A ma très chère maman :*

*Ma source de joie, bonheur, mon trésor et le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse celle qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A la mémoire de mon cher père :*

*Décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère qu'il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa petite fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.*

*Papa j'aurais aimé que tu sois à mes cotes dans ce jour-là.*

*A la mémoire de ma grand-mère maternelle :*

*Qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, t'accueille dans son éternel paradis.*

*A toute ma famille :*

*Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie*

*Veillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour*

*Tous vos efforts.*

*A tous mes ami(e)s :*

*Vous êtes les meilleurs ami(e)s qui puissent exister, vous étiez là toujours à mes côtés.*

*Je vous aime très fort et sans exceptions.*

*A toute l'équipe de l'HMRCU :*

*Le service de laboratoire central de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine et surtout l'unité de la biochimie, j'ai vraiment de la chance d'avoir l'opportunité de faire mon stage dans une équipe aussi sérieuse et efficace comme la vôtre.*

*Milles merci à vous.*

*A mon binôme d'amour MOUNIA et à toute sa famille :*

*Je suis vraiment très heureuse de faire mon travail de fin d'étude avec toi*

*Mounia par ce que avant tout tu es ma chère amie et je ne pense pas qu'une personne peuvent trouver un binôme comme toi.*

*Un grand merci à ta famille pour leur support précieux depuis le début de notre travail.*

*À tous mes proches, à tous ceux sans lesquels je n'aurais pas achevé ce travail.*

*Et mes pensées vont vers une personne très précise.*

*Ghorabi Assia*

## *Dédicaces :*

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

*A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :*

*A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.*

*A une personne qui m'a tout donné sans compter.*

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré  
d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.*

*Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu  
n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes  
études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.  
En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de  
ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner  
santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*A MON TRÈS CHER PÈRE :*

*A celui qui m'a aidé à découvrir le 'savoir' le trésor inépuisable.*

*De tous les pères, tu as été le meilleur, tu as su m'entourer d'attention,  
m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de  
l'honnêteté et de la responsabilité.*

*Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient  
exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.*

*Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ton encouragement est pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre*

*Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal*

*A MON TRÈS CHER FRÈRE MOHAMED, SON EPOUSE AMIRA ET LEURS PETITES FILLES NAELA ET NORHANE*

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*Malgré la distance qui nous sépare vous étiez toujours là pour me soutenir et m'encourager.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A MON TRÈS CHER FRÈRE ABDELKIOUM ET SON EPOUSE ROKIA*

*Aucun mot ne pourrait exprimer les sentiments et l'amour que je porte pour vous.*

*Je vous remercie pour toute précieuse aide et courage que vous m'avez porté.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A MA TRÈS CHER SŒUR ROKIA au cœur si grand*

*Tu étais toujours présente à mes côtés pour me soutenir, m'aider et m'encourager.*

*Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi.*

*Aucune expression ni mot ne pourraient exprimer l'amour que je porte pour vous.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE*

*Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

*À tous mes ami(e)s*

*En Souvenir des plus beaux instants qu'on a passés ensemble Aussi bien à tous  
ceux qui m'ont aidé.*

*A mon binôme que je raffole ASSIA et à toute sa famille :*

*Le meilleur pour la fin ...*

*Je suis très émue en écrivant ces mots ...*

*Je me souviendrai toujours aux moments qu'on a passé ensemble en réalisant se  
travail*

*Je ne regretterai jamais de t'avoir choisi comme binôme.*

*Notre amitié est de plus en plus forte.*

*On n'est plus amies on est sœurs*

*Un grand merci à ta famille pour leur support durant la réalisation de ce travail.*

*Cherouana Mounia*



## Résumé :

Les extraits naturels de plantes médicinales contiennent une grande variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de deux plantes : la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la Scille maritime (*Drimia maritima*).

L'analyse qualitative de ces deux extraits par les tests préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins et des flavonoïdes ; ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage des composés phénoliques, des tanins, et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques ( $48.82 \pm 2.718$  ug EAG / mg d'extrait), les tanins ( $5.38 \pm 3.894$  ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes ( $5.47 \pm 0.428$  ug EQ / mg d'extrait) pour l'extrait aqueux de la Sauge officinale (*Salvia officinalis*), et pour l'extrait aqueux de la Scille maritime (*Drimia maritima*) on a les valeurs suivantes : pour les composés phénoliques ( $31.86 \pm 4.131$  ug EAG / mg d'extrait), les tanins ( $6.66 \pm 2.897$  ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes ( $1.01 \pm 0.035$  ug EQ / mg d'extrait).

L'activité antioxydante a été établie par Le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène qui a avéré que l'activité d'inhibition de l'extrait aqueux de la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) est de l'ordre de 79.55% qui est plus élevée par rapport à l'activité d'inhibition de l'extrait aqueux de la Scille maritime (*Drimia maritima*) qui est de l'ordre de : 18%.

**Mots clés :** Sauge officinale (*Salvia officinalis*), Scille maritime (*Drimia maritima*), composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, test de blanchissement de  $\beta$ -carotène.

## Abstract:

The Natural extracts derived from medical plants contain a big variety of biologically active molecules. In this study, we tried to evaluate the antioxidant activity of aqueous extract prepared from two plants: the first extract was prepared from the leaves of Sage Officinal, and the second extract was prepared from the bulb of the Sea squil.

The qualitative analysis of these extracts by the preliminary tests and the CCM revealed the presence of the phenolic compounds, tannins and flavonoids in the both extracts, this being confirmed by a quantitative analysis based on the determination of phenolic compounds, Tannins and flavonoids whose dosage values are: for the phenolic compounds ( $48.82 \pm 2.718 \mu\text{g EAG} / \text{mg extract}$ ), tannins ( $5.38 \pm 3.894 \text{ ug ECT} / \text{mg extract}$ ) and flavonoids ( $5.47 \pm 0.428 \mu\text{g EQ} / \text{mg of extract}$ ) In the aqueous extract of the Sage officinal, and for the phenolic compounds ( $31.86 \pm 4.131 \mu\text{g EAG} / \text{mg extract}$ ), tannins ( $6.66 \pm 2.897 \text{ ug ECT} / \text{mg extract}$ ) and flavonoids ( $1.01 \pm 0.035 \mu\text{g EQ} / \text{mg of extract}$ ) In the aqueous extract of the Sea squil

The evaluation of the antioxidant activity was established by the method of  $\beta$ -carotene.

The results obtained demonstrate a presence of antioxidant activity in the two extracts with different proportions: the value of antioxidant activity of the Sage officinal (79.55%) is more important than that in the aqueous extract of the Sea squil.

**Key words:** Sage officinal, Sea squil, phenolic compounds, tannins, flavonoids, antioxidant activity.

## الملخص:

تحتوي المستخلصات الطبيعية المشتقة من النباتات الطبية على مجموعة كبيرة ومتنوعة من المكونات والجزئيات النشطة بيولوجيا. وفي هذا السياق كان الهدف من هذه الدراسة، هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي الذي أعد من نباتين: الأول من أوراق نبتة المرمية، بينما المستخلص الثاني أعد من لب نبتة بصل فرعون.

كشفت التحليل النوعي لهذه المستخلصات بواسطة الاختبارات التمهيدية و الكروماتوغرافيا وجود مركبات الفينول و الفلافونويدات و العفص، و هذا ما يؤكد التحليل الكمي المعتمد أساسا على حساب تراكيز هذه المركبات، حيث تراكيز المركبات الفينولية ( $2.718 \pm 48.82$  ميكرو غرام مكافئ الغاليك /ملغ)، الفلافونويدات ( $0.428 \pm 5.47$  ميكرو غرام مكافئ الكارستين/ملغ) بينما العفص ( $3.894 \pm 5.38$  ميكرو غرام مكافئ الكاتشين/ملغ) بالنسبة لمستخلص نبتة المرمية، أما بالنسبة للمستخلص المائي لنبتة بصل فرعون فكانت التركيز كالتالي: المركبات الفينولية ( $4.131 \pm 31.86$  ميكرو غرام مكافئ الغاليك /ملغ)، الفلافونويدات ( $0.035 \pm 1.01$  ميكرو غرام مكافئ الكارستين/ملغ) بينما العفص ( $2.897 \pm 6.66$  ميكرو غرام مكافئ الكاتشين/ملغ).

أثبتنا ومن خلال تقنية ال بيتا كاروتين أن قيمة النشاط المضاد للأكسدة بالنسبة للمستخلص المائي لنبتة المرمية مرتفع ( $79.55\%$ )، بينما قيمة هذا الأخير في المستخلص المائي لنبتة بصل فرعون ( $18\%$ ).

**الكلمات المفتاحية:** نبتة المرمية، نبتة بصل فرعون، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، العفص، النشاط المضاد للأكسدة، تقنية البيتا الكاروتين

# Sommaire

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Liste des figures

### Chapitre I. La phytothérapie et les plantes médicinales.

I.1. Définition de la phytothérapie :.....	1
I.2. Les Plantes médicinales : .....	1

### Chapitre II. Généralités sur la *Salvia officinalis*.

II.1. Etude Botanique :.....	2
II.2. Classification classique :.....	2
II.3. Culture.....	3
II.4. Usages en pharmacopée.....	3
II.5. Effets / Indications :.....	3

### Chapitre III. Généralités sur la *Drimys maritima*.

III.1. Etude Botanique : .....	5
III.2. Classification : .....	5
III.3. Synonymes : .....	6
III.4. Répartition géographique : .....	6
III.5. Composition chimique :.....	6
III.6. Effets biologiques :.....	7
III.7. Usages traditionnels :.....	7
III.8. Utilisations raticides :.....	8

III.9. Toxicité de la Scille : .....	9
--------------------------------------	---

## **Chapitre IV. Les Métabolites Secondaires .**

IV.1. Définition des Métabolites secondaires :.....	10
IV.2. Les principales familles de métabolites secondaires chez les plantes .....	11
IV.2.1. Les Composés azotés (Acides aminés non-protéinogènes) : .....	11
IV.2.2. Les Alcaloïdes : .....	12
IV.2.3. Les Composés phénoliques : .....	13
IV.2.4. Les Flavonoïdes : .....	13
IV.2.5. Les Isoprénoïdes ou terpénoïdes : .....	14
IV.2.5.1. La Classification des composés terpéniques : .....	14
IV.2.6. Les tanins : .....	15

## **Chapitre V. Le stress oxydant.**

V.1. Définition : .....	16
V.2. Les radicaux libres .....	17
V.2.1. Radical superoxyde $O_2^-$ : .....	18
V.2.2. $H_2O_2$ : peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée : .....	18
V.2.3. Le radical hydroxyle $OH^\circ$ : .....	18
V.3. Les antioxydants : .....	18
V.3.1. Les antioxydants enzymatiques : .....	19
V.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD) : .....	19
V.3.1.2. Les catalases : .....	19
V.3.1.3. Les glutathion peroxydases (GSHPX) : .....	19
V.3.2. Les antioxydants non enzymatiques (Scavengers) : .....	19

V.3.2.1. Vitamine E : .....	19
V.3.2.2. Vitamine C (acide ascorbique) : .....	20
V.3.2.3. $\beta$ -carotène : .....	20
V.3.2.4. Glutathion : .....	20

## **2<sup>ème</sup> partie.**

### **Matériels et Méthodes d'Analyse .**

#### **Chapitre I. Etude phytochimique .**

I.1. Matériel végétal : .....	21
I.1.1. Salvia officinalis : .....	21
I.1.2. Drimia maritima : .....	22
I.2. Méthode d'analyse : .....	22
I.2.1. Extraction par macération : .....	22
I.2.1.1. La lyophilisation : .....	23
I.3. Analyse de l'extrait aqueux des échantillons : .....	25
I.3.1. Analyse qualitative de l'extrait des échantillons : .....	25
I.3.1.1. Tests préliminaires : .....	25
I.3.1.1.1. Test des composés phénoliques : .....	25
I.3.1.1.2. Caractérisation des Flavonoïdes : .....	25
I.3.1.1.3. Caractérisation des tanins condensés : .....	26
I.3.1.1.4. Différentiation des tanins : .....	26
I.3.1.1.5. Caractérisations des saponines : .....	26
I.3.1.1.6. Caractérisation des alcaloïdes : .....	26
I.3.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) : .....	27

I.3.2. Analyse quantitative des extraits : .....	29
I.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux : .....	29
I.3.2.2 Dosage des Flavonoïdes : .....	30
I.3.2.3 Dosage des tanins condensés : .....	30
 <b>Chapitre II. Etude de l'activité biologique</b>	
II.1. L'activité antioxydante : .....	32
II.1.1 Test de Blanchissement de la $\beta$ -carotène : .....	32
 <b>3<sup>ème</sup> Partie .</b>	
 <b>Résultats et Discussions.</b>	
 <b>Chapitre I. Etude phytochimique</b>	
I.1. Extraction à partir des feuilles de la Sauge officinale et le bulbe de la Scille maritime : .....	33
I.1.1. Extrait aqueux des deux plantes : .....	33
I.1.2. Détermination du rendement d'extraction : .....	33
I.2. Analyse des deux extraits : .....	34
I.2.1. Analyse qualitative : .....	34
I.2.1.1. Tests préliminaires : .....	34
I.2.1.2. Chromatographie analytique sur couche mince : .....	36
I.2.2. Analyse quantitative et dosage biochimique : .....	37
 <b>Chapitre II. Etude de l'activité biologique</b>	
II.1. L'activité antioxydante : .....	42
<b>Conclusion : .....</b>	<b>48</b>
Référence bibliographique.....	50

## Liste des abréviations

**ABS** : Absorbance

**AG** : Acide gallique.

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

**AQ** : Aqueux.

**BAW** : Butanol/Acide acétique/Eau.

**Cat** : Catéchine.

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.

**C** : Concentration.

**CPG-SM** : Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse

**D.O** : Densité Optique

**E. AQ** : Extrait aqueux

**Fe<sup>2+</sup>** : Ions Ferreux.

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions Ferriques.

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

**FV** : Flavonoïdes.

**GSHPX** : Les glutathion peroxydases.

**HCL** : Acide Chlorhydrique.

**HSP** : Protéines du choc thermique.

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

**HPLC** : Chromatographie liquide haute performance.



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

**O<sub>2</sub>** : Radical superoxyde.

**OH<sup>°</sup>** : Le radical hydroxyle.

**PPT** : Polyphénols Totaux.

**Que** : Quercétine.

**R** : Rendement en gramme.

**R<sub>f</sub>** : Rapport frontal.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**SD** : Standard Déviation.

**SOD** : Les superoxydes dismutases.

**T** : Temps.

**TCs** : Tanins Condensé.

**TNF** : Facteur nécrosant des tumeurs.

**UV** : Ultra-violet.

**µg EAG/Mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait.

**µg ECT/Mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait.

**µg EQ/Mg d'extrait** : Microgramme d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait.

**% d'inhibition** : pourcentage d'inhibition.

# Liste des tableaux

N° de tableau	Titre des tableaux	Page
<b>Tableau 01.</b>	La classification botanique de <i>Salvia officinalis</i> . (Fruleux, 2008-2009).....	2
<b>Tableau 02.</b>	Les composants chimiques des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> et leur propriété. (Fruleux, 2008-2009).....	3
<b>Tableau 03.</b>	La classification botanique de <i>Drimia maritima</i> . [site1].....	6
<b>Tableau 04.</b>	Les composants de la plante <i>Drimia maritima</i> . (El fennouni, 2009).....	7
<b>Tableau 05.</b>	Activités biologiques des composés polyphénoliques. (Grait, 2014).....	11
<b>Tableau 06.</b>	Structure de quelques Alcaloïdes. [site5].....	12
<b>Tableau 07.</b>	La couleur et l'aspect des deux extraits aqueux des feuilles de la Sauge officinale et du bulbe de la Scille maritime.....	33
<b>Tableau 08.</b>	Le rendement des deux extraits aqueux des feuilles de la Sauge officinal et de bulbe de la Scille maritime (g/100g de plante fraîche).....	33
<b>Tableau 09.</b>	Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux de la Sauge officinal et la Scille maritime.....	35
<b>Tableau 10.</b>	Les Rapports frontaux et les couleurs après révélation physique (254nm), et chimique par l'acide sulfurique.....	37
<b>Tableau 11.</b>	La teneur en composés phénoliques des deux extraits aqueux de la Sauge officinal et la Scille maritime.....	38
<b>Tableau 12.</b>	L'évolution de la densité optique des différentes concentrations de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> dans 100 min.....	42
<b>Tableau 13.</b>	L'évolution de la densité optique des différentes concentrations de l'extrait de <i>Drimia maritima</i> dans 100 min.....	43
<b>Tableau 14.</b>	Pourcentage d'inhibition de blanchiment du $\beta$ -carotène de différente concentration de l'extrait de la Sauge officinale.....	45
<b>Tableau 15.</b>	Pourcentage d'inhibition de blanchissement du $\beta$ -carotène de différente concentration dans l'extrait de la Scille maritime.....	46

# Listes des figures

N° de figure	Titre des figures	Page
<b>Figure 01.</b>	Image représente l'incorporation des plantes dans de nombreux médicament [site1].....	1
<b>Figure 02.</b>	La feuille de <i>Salvia officinalis</i> .....	2
<b>Figure 03.</b>	La plante de <i>Salvia officinalis</i> récoltée en mars 2018 (Ali Mendjeli Constantine).....	2
<b>Figure 04.</b>	Le bulbe de la plante <i>Drimia maritima</i> .....	5
<b>Figure 05.</b>	Les feuilles de <i>Drimia maritima</i> récoltée en mars 2018 (zighoud youcef constnatine).....	5
<b>Figure 06.</b>	Structure de quelques acides aminés protéinogènes.....	12
<b>Figure 07.</b>	Structure du phénol.....	13
<b>Figure 08.</b>	Les principales catégories de flavonoïdes ( <b>Gravot, 2008/2009</b> ).....	13
<b>Figure 09.</b>	Structure de monoterpène. [site7].....	14
<b>Figure 10.</b>	Structure de base des tanins [site8].....	15
<b>Figure 11.</b>	Facteurs intervenants dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante (A.Favier1997).....	17
<b>Figure 12.</b>	Les feuilles séchées de <i>Salvia officinalis</i> .....	21
<b>Figure 13.</b>	Le bulbe séché de <i>Drimia maritima</i> .....	22
<b>Figure 14.</b>	L'extrait aqueux des deux plantes <i>Salvia officinalis</i> et <i>Drimia maritima</i> .....	23
<b>Figure 15.</b>	La filtration de la phase aqueuse du macérât des deux plantes <i>Salvia officinalis</i> et <i>Drimia maritima</i> .....	23
<b>Figure 16.</b>	Lyophilisateur de l'Université des Frères Mentourie Constantine1.....	24
<b>Figure 17.</b>	Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux.....	25
<b>Figure 18.</b>	Le dépôt des échantillons.....	28
<b>Figure 19.</b>	Développement des plaques.....	28
<b>Figure 20.</b>	Méthode de calcul du rapport frontal.....	29
<b>Figure 21.</b>	La réaction entre la vanilline et les tanins condensés ( <b>Schofield et al., 2001</b> ).....	31
<b>Figure 22.</b>	L'extrait aqueux des deux plantes après lyophilisation.....	34
<b>Figure 23.</b>	Révélation sous UV à 254nm.....	36
<b>Figure 24.</b>	Révélation chimique par l'acide Sulfurique.....	36

<b>Figure 25.</b> Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins en µgEq standard/ mg de <i>Salvia officinalis</i> .....	38
<b>Figure 26.</b> Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins en µgEq standard/ mg de la Scille maritime.....	39
<b>Figure 27.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de deux essais).....	40
<b>Figure 28.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne ± SD de deux essais).....	41
<b>Figure 29.</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine (moyenne ± SD de deux essais).....	41
<b>Figure 30.</b> L'evolution du Blanchissement de la β-carotène dans l'extrait de la Sauge officinale.....	43
<b>Figure 31.</b> L'evolution du Blanchissement de la β-carotène dans l'extrait de la Scille maritime.....	44
<b>Figure 32.</b> Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β-carotène dans l'extrait de la Sauge officinale.....	45
<b>Figure 33.</b> Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β-carotène dans l'extrait de la Sauge officinale.....	45
<b>Figure 34.</b> Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β-carotène dans l'extrait de la Scille maritime.....	46
<b>Figure 35.</b> Pourcentage d'inhibition de blanchissement du β-carotène dans l'extrait de la Scille maritime.....	47

# Introduction générale

## **Introduction :**

De nos jours, et partout dans le monde l'intérêt pour la médecine traditionnelle s'accroît constamment, et cette dernière est à base des plantes médicinales qui sont toutes les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles. (Sofowora, 2009).

La plante est rarement utilisée entière (piloselle). Le plus souvent il s'agit d'une partie de la plante : rhizome, bulbe (la Scille maritime), racine, parties aériennes, tige, écorce, bourgeon, feuille (la Sauge officinale), sommité fleurie, fleur, pétale, fruit, graine, tégument de graine, exsudation de la plante, thalle des algues. Différentes parties d'une même plante peuvent avoir des utilisations différentes. (Lachèvre, 2010)

Actuellement les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme des anti-inflammatoires, sont fortement antioxydants, antibactériens urinaires, analgésiques et aussi antimoraux. (Chevallier, 1996).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire et la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. (Boizot et Charpentier, 2006)

Au cours des dernières années, le stress oxydatif est devenu très répandu dans le monde entier car il est lié au fait que l'oxygène que nous respirons tous les jours peut, dans certaines circonstances, devenir extrêmement agressif pour notre organisme. La toxicité de l'oxygène peut se manifester dans notre organisme à travers la formation de ce que l'on appelle des espèces oxygénées activées dont font partie les "radicaux libres".

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier l'activité antioxydante (qui permet de lutter contre les radicaux libres) de l'extrait aqueux des plantes : la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la Scille maritime (*Drimia maritima*) de la région de Constantine d'Algérie.

Pour cela notre étude englobe deux aspects :

- Le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur une analyse qualitative : extraction et mise en évidence, et une autre analyse quantitative du contenu en composés phénoliques.
- Le second aspect est consacré à une évaluation d'une activité biologique : l'activité antioxydante.

# Chapitre I :

## La phytothérapie et les plantes médicinales



### I.1. Définition de la phytothérapie :

Une science à la fois ancestrale et moderne La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux substances actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments (**Institut européen des substances Végétales, 2015-2016**).



**Figure 01** : Image représente l'incorporation des plantes dans de nombreux médicaments [site1].

### I.2. Les Plantes médicinales :

D'après la X<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise (**Chabrier,2010**).

Chapitre II :  
Généralités sur la *Salvia  
officinalis*

## II.1. Etude Botanique :

Sous-arbrisseau de 70 cm de hauteur, la sauge est vivace, très ramifiée. Les tiges sont quadrangulaires (Famille des Lamiacées), dressées et velues. Les feuilles sont épaisses, oblongues, de couleur vert gris, ont un aspect cotonneux sur la face intérieure. Les fleurs sont violet-bleu et forment un épi mobile au printemps (**BORGERS**). Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie «sauver», «guérir» ; C'est une des plantes sacrées des anciens (**Fruleux, 2008-2009**).



**Figure 02** : Les feuilles de la Sauge officinale



**Figure 03** : La Sauge officinale récoltée en mars 2018 (Ali Mendjeli Constantine)

## II.2. Classification classique :

**Tableau 01** : La classification botanique de *Salvia officinalis* (**Fruleux, 2008-2009**).

<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Sous-règne</i>	<i>Tracheobionta</i>
<i>Division</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Classe</i>	<i>Magnoliopsida</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Asteridae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Salvia</i>

### II.3. Culture :

Cette plante aromatique, médicinale, condimentaire et décorative se cultive en sol léger et perméable, voire rocailleux, toujours à exposition ensoleillée. La récolte des feuilles se fait du printemps à l'automne, aussi fréquemment qu'on le désire, toujours par temps sec pour effectuer un séchage à l'ombre rapide (Fruleux, 2008-2009).

### II.4. Usages en pharmacopée :

La Saugue officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation.

Les feuilles renferment également de nombreux Composants chimiques tels que :

**Tableau 02 :** Les composants chimiques des feuilles de *Salvia officinalis* et leurs propriétés. (Fruleux, 2008-2009).

Pinène	Propriétés antiseptiques
Salviène	Essence particulière au genre <i>Salvia</i>
Thuyone	Convulsivant puissant, possède également des propriétés emménagogues
Cinéol	Terpène à fonction digestive
Bornéol	Alcool hydroterpénique bicyclique
Camphrène	Hydrocarbure terpénique
Saponine	Propriétés tensioactives
Tanins	Propriétés antioxydantes, utilisé en médecine externe comme astringent antidiarrhéique
Mucilage,	Propriétés laxatives
Œstrogène	Hormone
Asparagine	Acide $\alpha$ -aminé polaire non chargé et hydrophile
Vitamines, résine	/

### II.5. Effets /indications :

De nos jours la sauge est toujours utilisée pour ses nombreuses propriétés étranges et particulières, on peut notamment retenir que la Saugue officinale est utilisée en :

- Usage interne (à ingérer en gouttes, tisanes ou comprimés) :
  - Anti diaphorétique (=contre la transpiration)
  - En condiment grâce à son fort effet antioxydant (en cuisine).
  - Les sommités fleuries et les feuilles permettent la guérison de troubles digestifs variés, Elles sont Aussi utilisées pour élaborer des préparations d'hygiène buccale (**Fruleux, 2008-2009**).
- Usage externe (en solution) : Seules les feuilles sont utilisées pour un usage externe
  - un antiseptique puissant (bactéricide, antifongique, antiviral) : la sauge permet de soigner les piqûres et les morsures, pour cela il suffit d'appliquer une ou plusieurs feuilles et frotter.
  - Sous forme d'infusion elle soigne les maux de gorge ou les aphtes.
  - Pour l'asthme on peut également la fumer.
  - Antispasmodique : la sauge atténue les douleurs intestinales et les crampes d'estomac, elle favorise la digestion et ouvre l'appétit.
  - Régulateur Hormonal : la sauge est utilisée depuis des siècles pour réguler le cycle menstruel et réduire les troubles de la ménopause, elle régule notamment les bouffées de chaleur et la transpiration.
  - Soins capillaires : La sauge sert également en lotion pour la beauté, elle repousse et prévient la chute des cheveux (**Rougies, 2018**).
  - antiphlogistique (contre l'inflammation).
  - inhibition de l'acétylcholinestérase.
  - anti galactogène (**Fruleux, 2008-2009**).
- Vertus moins connues : la sauge aurait également des vertus contre la maladie d'Alzheimer et aiderait à calmer les crises (**Rougies, 2018**).

Chapitre III :  
Généralités sur la *Drimia*  
*maritima*

### III.1. Etude Botanique :

La scille est une plante méditerranéenne, vivace par un bulbe énorme dont le diamètre atteint, en Algérie, 20 à 30 cm et le poids, 5 à 7 kg (photo 45). Il est formé d'écailles emboîtées que l'on appelle également tunique ou squames, de couleur blanchâtre dite Scille d'Italie ou Scille « femelle » ou rougeâtre dite Scille d'Espagne ou Scille « male », suivant les variétés. Les écailles externes sont unies et membraneuses, les écailles moyennes sont épaisses et charnues (**Hammiche et al., 2013**).

La tige fleurie (environ 1 m) porte à son extrémité une grappe de petites fleurs blanches à corolle en étoile (**Joly, 2010**).



**Figure 04** : Le bulbe de la plante *Drimia maritima*.

**Figure 05** : Les feuilles de *Drimia maritima* récoltées en mars 2018 (Zighoud Youcef Constantine).

### III.2. Classification :



**Tableau 03** : La classification botanique de *Drimia maritima* (Cronquist A, 1981)

<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Division</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Classe</i>	<i>Liliopsida</i>
<i>Ordre</i>	<i>Liliales (Asparagales)</i>
<i>Famille</i>	<i>Liliaceae (Asparagaceae)</i>
<i>Genre</i>	<i>Drimia</i>
<i>Nom binominal</i>	<i>Drimia maritima</i>

**III.3. Synonymes :**

Scille officinale, Scille marine, squille, urginée fausse Scille, charpentaire, oignon marin (Joly, 2010).

**III.4. Répartition géographique :**

La scille est spontanée sur les rivages sablonneux du pourtour méditerranéenne .Elle pousse de l'Atlantique au Moyen-Orient.

Elle est particulièrement abondante en Algérie dans les forêts littorales, les lieux rocaillieux, les coteaux secs, les pâturages ; elle est utilisée pour border les champs (Hammiche et al., 2013).

**III.5. Composition chimique :**

Seul le bulbe de la Scille renferme les principaux constituants qui sont des hétérosides cardiotoniques : scillarènes A et B, scillipicine, scilline, scillitoxine.

Le scillarène A et le scillarène B sont deux hétérosides cardiotoniques stéroïdiques, du type bufadiénolide.

La Scille rouge possède un hétéroside particulier, le scilliroside (C<sub>32</sub> H<sub>44</sub> O<sub>12</sub>), Scilliroside Proscillaridine A, Scilliglucoside, Scillicyanoside.

Autres constituants chimiques de la plante :

**Tableau 04** : Les composants de la plante *Drimia maritima* (El fennouni, 2009).

Matières minérales	Riches en oxalate de calcium et citrate de calcium.
Les réserves glucidiques	Sont constituées essentiellement par des fructosanes : sinistrine, scilline, glucosinistrine.
Tanins catéchiques et condensés (catéchols)	-
Flavonoïdes	Apigénine, dihydroquercétine, lutéoline, quercétine, C- glucosyl-flavones (vitexine, orientine
Pigments anthocyaniques dans la scille rouge.	Le principal étant la chrysanthémine.
Stérols, mucilage	-

### III.6. Effets biologiques :

La scille est diurétique par action cardiovasculaire comme la digitale mais aussi par action rénale directe : elle augmente le débit sanguin au niveau du rein (**Chalmers et al., 1974**).

La scille exerce une activité anti-inflammatoire, anti-oxydante, antibactérienne, anti cholinergique, et les activités antivirales.

Elle a aussi à un effet bronchodilatateur (broncho-relaxant) pour l'asthme et les effets modulateurs de la sécrétion de muqueuses.

C'est l'une des origines du bufadienolide des glycosides tels que Scillaren A, scillirubroside, scilliroside, scillarenin et proscillaridine A, ce dernier a une puissante activité suppressive des lymphocytes T (**Nejatbakhsh et al., 2017**).

### III.7. Usages traditionnels :

En médecine traditionnelle maghrébine, la scille reste assez utilisée. La décoction du bulbe dans l'huile d'olive est utilisée pour ses propriétés antiasthmatiques et expectorantes dans les affections respiratoires, car elle augmente toutes les sécrétions, notamment les sécrétions bronchiques (**Hammiche et al., 2013**).

C'est le remède éprouvé des bronchites, des toux persistantes et productives car il fluidifie les sécrétions ; c'est également lui que l'on conseille pour le nez bouché, le rhume, la coqueluche et l'asthme (**Hammiche, 2014**).

En fumigations vaginales, le bulbe, broyé dans l'huile d'olive et mélangé avec d'autres ingrédients, est prescrit pour traiter la stérilité et comme abortif.

Toujours en fumigations, il est utilisé comme antiseptique intra-utérine pour soigner les affections gynécologiques et en post-partum ; le mode d'administration est recommandé dans le traitement des crises hémorroïdaires.

Les squames, appliquées en pansement sur les plaies infectées, favorisent la guérison.

Elle est, parfois, employée comme abortif et aphrodisiaque. Le liquide, extrait du bulbe broyé, est utilisé pour traiter les tumeurs cutanées et les verrues (**Hammiche et al., 2013**).

### III.8. Utilisations raticides :

La scille maritime, *urginea maritima*, est un produit raticide excellent qui tue en moins de 4 jours 95% des rats qui en ont ingurgité des doses infimes. Le produit n'est malheureusement pas 'attractif' pour le rat [[site2](#)].

### III.9. Toxicité de la Scille :

La plante est toxique, responsable d'empoisonnements graves. Elle entraîne des troubles du rythme et de la conduction, pouvant conduire à un arrêt circulatoire ; ceux-ci sont habituellement précédés par des troubles digestifs et neurosensoriels.

- **Troubles digestifs** : nausées, vomissements précoces dus à une excitation des fibres lisses, des douleurs abdominales et diarrhées.

**Troubles neurosensoriels** plus tardifs : obnubilation et somnolence ou agitation avec angoisse, parfois délire et hallucinations ; céphalées, myalgies et asthénie sont fréquentes.

- **Troubles oculaires** généralement rencontrés lors de surdosage : vision floue ou dyschromatopsie.

- Atteinte rénale avec oligoanurie.

- **Troubles cardiaques** :

\* troubles du rythme : bradycardie

\* troubles de la conduction : bloc auriculo-ventriculaire

\* troubles de l'excitabilité avec extrasystoles ventriculaires.

Une inflammation de la peau provoquée par la plante fraîche serait due essentiellement à la présence des raphides d'oxalate de calcium. Les arêtes vives de ces cristaux altèrent la peau ou les muqueuses et permettent l'introduction des principes actifs, ce qui provoque une véritable rubéfaction (**El fennouni, 2009**).

# Chapitre IV :

## Les métabolites secondaires

### IV.1. Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes, contrairement aux métabolites primaires qui jouent un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal (protéines, lipides, glucides, acides aminés, acides nucléiques) [site3]. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires [site4].

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques

Auxquelles on ajoute classiquement

- La catégorie des hétérosides, constituée de dérivés glycosylés de composés terpéniques, phénoliques et plus rarement d'alcaloïdes
- Les molécules désignées sous le terme de « composés mixtes » ou « composés d'origine mixte », qui correspondent à des condensations de molécules provenant des catégories citées plus haut

Dans chacune de ces grandes catégories, on distingue une quantité de catégories inférieures.

Les classifications sont généralement basées sur :

- La nature biochimique des molécules, leurs propriétés et effets biologiques (dans le cas des alcaloïdes)
- Et/ou de leur origine biosynthétique (**Gravot, 2008/2009**).

Le rôle des métabolites secondaire :

Ces métabolites jouent souvent un rôle de défense de la plante qui les fabrique.

Leurs rôles sont multiples :

- Ils ont une action anti-herbivore (menthe).
- Ils peuvent se comporter comme des réducteurs de la digestibilité.
- Ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons.
- Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) [site4].

**Tableau 05 :** Activités biologiques des composés polyphénoliques (Grait, 2014).

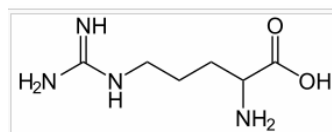
Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioœdémateuse
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Pro-anthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Anti tumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants

## IV.2. Les principales familles de métabolites secondaires chez les plantes :

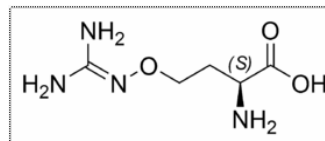
### IV.2.1. Les Composés azotés (Acides aminés non-protéinogènes) :

Pas toujours intégrés dans le métabolisme secondaire. Ces composés (très grande variété > 300) sont caractéristiques de certaines Légumineuses. Ils présentent une structure proche d'acides aminés protéinogènes (par exemple la canavanine et l'arginine) sont responsables de troubles

neurologiques par un effet mimétique (Gravot, 2008/2009).



Arginine



Canavanine

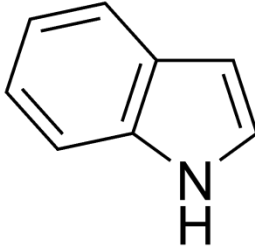
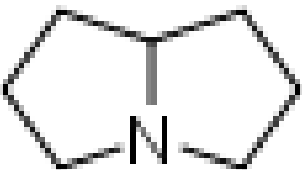

Figure 06 : Structure de quelque acide aminé protéinogène (Gravot, 2008/2009).

### IV.2.2. Les Alcaloïdes :

Le terme d'alcaloïdes a été introduit pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis. Ce sont des substances azotées, basiques, d'origine naturel et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclut dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative. Ils existent à l'état de sels et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.

Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les alcaloïdes vrais. Nombre d'auteurs distinguent par ailleurs les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes (bruneton, 2009).

Tableau 06 : Structure de quelques Alcaloïdes [site5].

Alcaloïde vrai	Proto-Alcaloïde	Pseudo-Alcaloïde
		
Indol	Pyrrolizidine	Pipéridine



### IV.2.3. Les Composés phénoliques :

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'ils sont difficile à définir simplement. L'élément structurale fondamentale qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, Libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside.

Une définition purement chimique des phénols est toutefois insuffisante pour caractériser les composés phénoliques végétaux : Elle inclurait des métabolites secondaires possédant ces éléments structuraux alors même qu'ils appartiennent manifestement à des groupes photochimiques bien différenciés (**bruneton, 2009**).

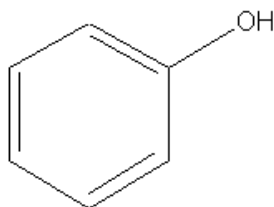


Figure 07 : Structure du phénol [site6].

### IV.2.4. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsable de la coloration des fleurs, et des fruits, ils dérivent tous de la flavone (ou 2-phénylchromone) et existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétéroside : les flavonosides (**Gazengel et orecchioni, 2013**).

Les principales catégories de flavonoïdes :

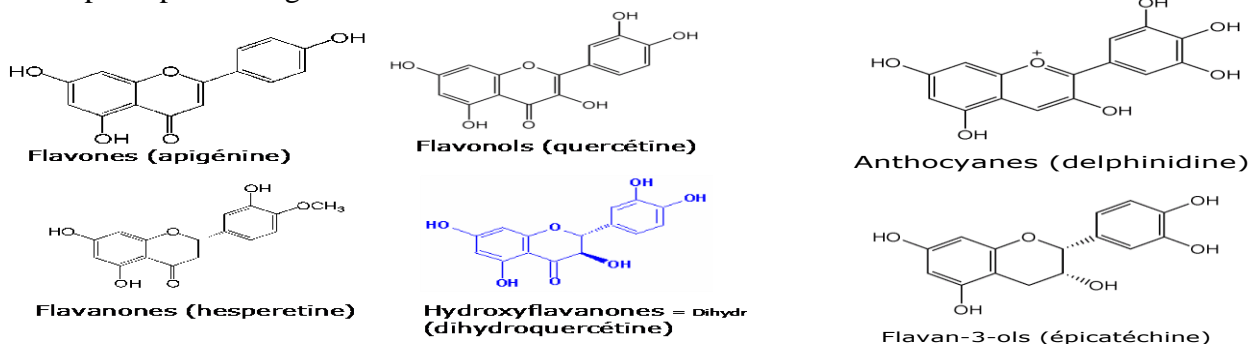


Figure 08 : Les principales catégories de flavonoïdes (**Gravot, 2008/2009**).

### IV.2.5. Les Isoprénoïdes ou terpénoïdes :

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes.

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faible poids moléculaire, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées (Gravot, 2008/2009).

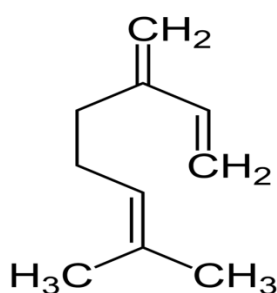


Figure 09 : Structure de monoterpène [site7].

#### IV.2.5.1. La Classification des composés terpéniques :

La classification des terpenoïdes repose sur le nombre d'unités terpéniques

C5 : hémiterpènes (une unité isoprène)

C10 : monoterpènes (deux unités isoprène)

C15 : sesquiterpènes (trois unités isoprène)

C20 : diterpènes (quatre unités isoprène)

C30 : triterpènes

C40 : tetraterpènes (caroténoïdes)

C45 et C50 : queues terpéniques des molécules d'ubiquinone et de plastoquinones

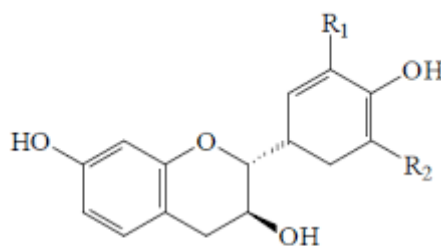
Au-delà de C50 : polyterpènes (caoutchouc...) (Gravot, 2008/2009).

### IV.2.6. Les tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Dalton qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Les tanins peuvent être définis aussi comme des produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses (**Bruneton, 2009**).

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique :

- Tanins hydrolysables : ce sont des esters du glucose et d'acides phénols qui sont soit l'acide gallique soit ellagique (**Gazengel et orecchioni, 2013**).
- Tanins condensés : ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques. ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Bruneton, 2009**).



$R_1 = R_2 = H$  : Afzéléchol

$R_1 = OH$  ;  $R_2 = H$  : Catéchol

$R_1 = R_2 = OH$  : Gallocatéchol

**Figure 10** : Structure de base des tanins [site8].

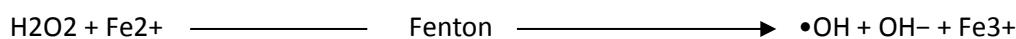
# Chapitre V :

## Le stress oxydant

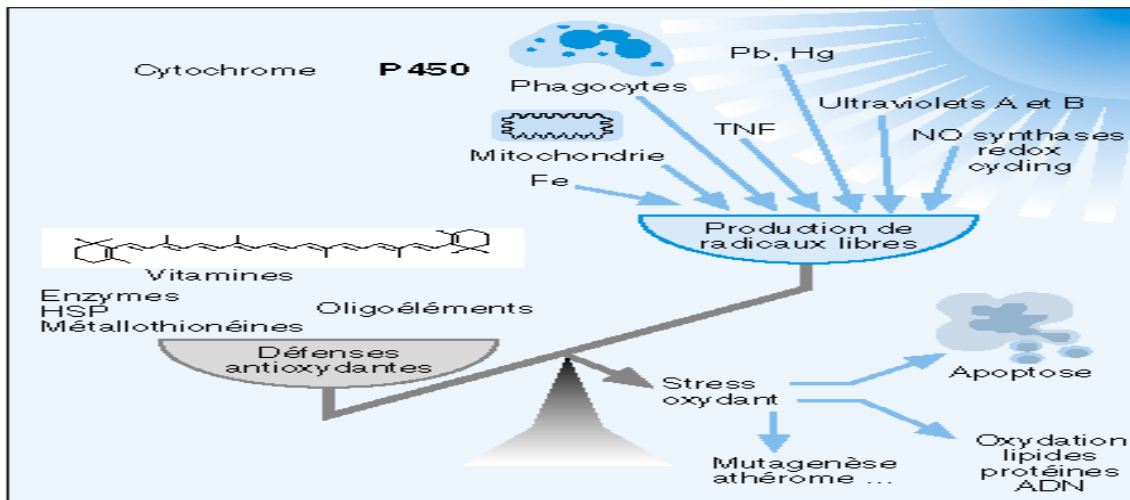
**V.1. Définition :**

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants – antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation.

Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une sur- production des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants. Les espèces activées de l'oxygène (EAO) sont principalement représentées par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) et le radical hydroxyle (•OH). Ces deux dernières molécules sont des radicaux libres. Les radicaux libres ont pour caractéristique de présenter au moins un électron célibataire sur leur orbitale externe et de réagir avec les molécules environnantes pour appairer cet électron célibataire, ce qui leur confère une extrême réactivité et toxicité. Le radical •OH, considéré comme un des plus réactifs (durée de vie limitée à quelques nanosecondes) est obtenu par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss mettant en jeu l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Elles sont catalysées par le fer :



(Sergent et al., 2000).



**Figure 11** : Facteurs intervenant dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante

TNF : facteur nécrosant des tumeurs ; HSP : protéines du choc thermique.

(Favier, 1997).

## V.2. Les radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être définis comme des espèces chimiques, paramagnétiques, éventuellement peu stables, caractérisées par un électron non apparié ou célibataire sur leur orbitale externe (Vergely et Rochette, 2005).

Ce sont des espèces chimiques, capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps de demi-vie extrêmement court ( $10^{-9}$  \_  $10^{-6}$  S), (Tessier et Marconnet, 1994). Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (Favier, 2003).

Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxy-nitrite (Goudable et Favier, 1996).

### V.2.1. Radical superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> :

Le radical superoxyde est produit à partir de l'oxygène moléculaire, principalement par les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes, macrophages, éosinophiles), et il participe à l'inactivation des virus et bactéries (**Goudable et Favier, 1996**).

### V.2.2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée :

Il est produit en grande partie à partir du radical superoxyde en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction. Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est un produit plus stable que les radicaux superoxydes, c'est pourquoi il diffuse très facilement l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. C'est un oxydant très puissant capable d'accepter deux électrons supplémentaires. Il est potentiellement toxique pour la cellule (**Goudable et Favier, 1996**).

### V.2.3. Le radical hydroxyle OH<sup>°</sup> :

Il peut être produit à partir de l'eau par les radiations ionisantes dans tous les organismes vivants mais il est surtout formé par la réaction de Fenton à partir d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Le radical hydroxyle formé est très oxydant. Il peut initier une peroxydation lipidique qui pourra continuer en chaîne. C'est le radical le plus dangereux pour l'organisme (**Goudable et Favier, 1996**).

## V.3. Les antioxydants :

Les radicaux libres de l'oxygène constituent des espèces certes réactives, mais indispensables au fonctionnement de l'organisme. Malgré leur caractère dangereux, l'organisme les maîtrise par un ensemble de molécules piégeantes dont les vitamines antioxydantes et d'enzymes comme les superoxydes dismutases et les peroxydases (**Favier, 1997**).

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (**Goudable et Favier, 1996**).

### **V.3.1. Les antioxydants enzymatiques :**

#### **V.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD) :**

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Haleng et al., 2007**).

#### **V.3.1.2. Les catalases :**

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que le système suivant : les glutathion peroxydases (**Goudable et Favier, 1996**).

#### **V.3.1.3. Les glutathions peroxydases (GSHPX) :**

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**Goudable et Favier, 1996**).

### **V.3.2. Les antioxydants non enzymatiques (Scavengers) :**

#### **V.3.2.1. Vitamine E :**

Elle agit in vivo et in vitro en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assurée par la vitamine C. Les concentrations de ces deux vitamines sont donc nécessairement liées pour la protection contre



la peroxydation lipidique. La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire. La vitamine E permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL (**Goudable et Favier, 1996**).

#### **V.3.2.2. Vitamine C (acide ascorbique) :**

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Haleng et al., 2007**)

#### **V.3.2.3. $\beta$ -carotène :**

Le  $\beta$ -carotène est apporté par l'alimentation, il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulier sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cytotoxicité et à la génotoxicité de nombreux agents (**Goudable et Favier, 1996**).

#### **V.3.2.4. Glutathion :**

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E (**Goudable et Favier, 1996**).

2<sup>ème</sup> partie :  
Matériel et Méthodes  
d'Analyse

# Chapitre I :

# Etude phytochimique

## I.1. Matériel végétal :

Les plantes ont été une riche source de médicaments car elles produisent une foule de molécules bioactives, dont la plupart jouent probablement le rôle de défense chimique contre des prédateurs ou des agents infectieux (Cox et Balick, 1994).

Pour cela, notre choix s'est porté sur deux plantes utilisées largement en médecine traditionnelle :

### I.1.1. *Salvia officinalis* :

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne de la Sauge officinale, les feuilles ont été récoltées le 13/03/2018 de la région nouvelle ville Ali Mendjeli Constantine.

Après la récupération du matériel végétal les feuilles étaient bien nettoyées.

Le séchage a été naturellement effectué à l'abri de l'humidité et la lumière, à une température ambiante durant 25 jours.

Les feuilles séchées ont été broyées dans un moulin électrique en une poudre très fine cette dernière a été conservée dans un flacon à l'abri de la lumière.



**Figure 12 :** Les feuilles séchées de *Salvia officinalis*.

**I.1.2. *Drimia maritima* :**

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie enterrée de la scille maritime, cette dernière a été récolté le 07/03/2018 de la région de Zighoud Youcef Constantine.

On en détache les écailles ou squames les plus extérieures du bulbe qui sont trop sèches, et les plus intérieures, qui sont muqueuses et presque inertes, sont rejetées. On ne conserve que les intermédiaires. Pour les sécher il faut les isoler et les coupée en lamelle.

Le séchage a été naturellement effectué à l'abri de l'humidité et la lumière, à une température ambiante durant 1 mois.

Le bulbe séché a été broyé dans un moulin électrique en une poudre très fine cette dernière a été conservée dans un flacon à l'abri de la lumière.

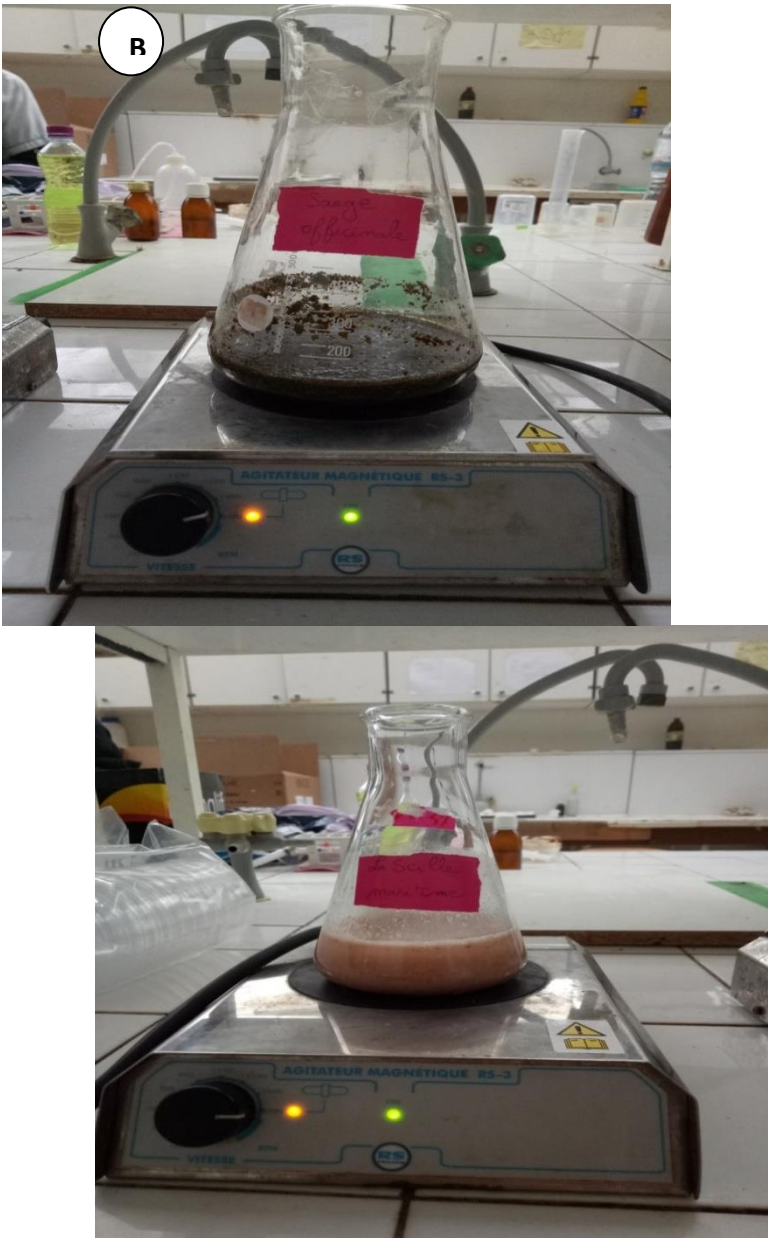


**Figure 13 :** Le bulbe séché de *Drimia maritima*.

## I.2. Méthodes d'analyse :

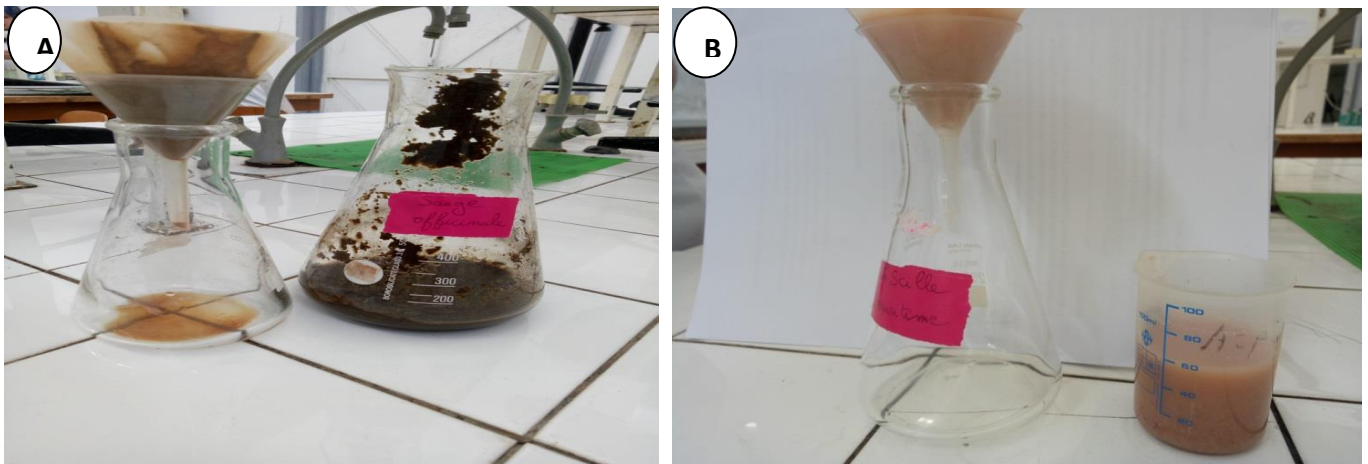
### I.2.1. Extraction par macération :

L'extrait aqueux a été obtenu par la macération pendant 24 h du 10 g de l'échantillon en volume de 100 ml d'eau distillée, la phase aqueuse du macérât a été alors filtrée sur un papier filtre et lyophilisée, l'extrait obtenu a été maintenu dans des flacons stériles (Ghdedba et al., 2014).



**Figure 14** : L'extrait aqueux des deux plantes *Salvia officinalis* et *Drimia maritima*.

**A:** *Salvia officinalis* / **B:** *Drimia maritima*.



**Figure 15 :** La filtration de la phase aqueuse du macérât des deux plantes *Salvia officinalis* et *Drimia maritima*.

**A:** *Salvia officinalis* / **B:** *Drimia maritima*.

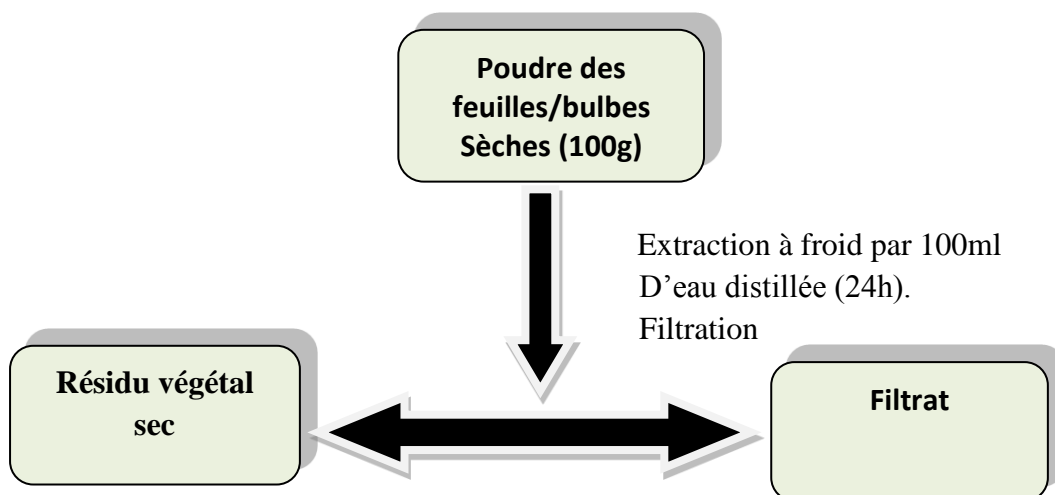
### I.2.1.1. La lyophilisation :

La lyophilisation est une opération de déshydratation à basse température et à basse pression qui consiste à éliminer principalement par sublimation, la majeure partie du solvant contenu dans un produit. Par abaissement de l'activité du solvant, les vitesses de réactions chimiques ou biochimiques peuvent alors être fortement ralenties et, par conséquent, une conservation à long terme du produit est possible. Dans leur grande majorité, les formulations pharmaceutiques destinées à être lyophilisées sont des solutions aqueuses.

Dans ce cas, l'eau est typiquement le seul solvant qui doit être éliminé par sublimation puis par désorption (Bogdani, 2011). Le produit, préalablement congelé à basse température, est placé dans une enceinte sous vide. L'abaissement de la pression entraîne une sublimation de la glace, c'est-à-dire que l'eau à l'état de glace s'élimine sous forme de vapeur sans passer par l'état liquide [site9].



**Figure 16 :** Lyophilisateur de l'Université des Frères Mentouri Constantine1.





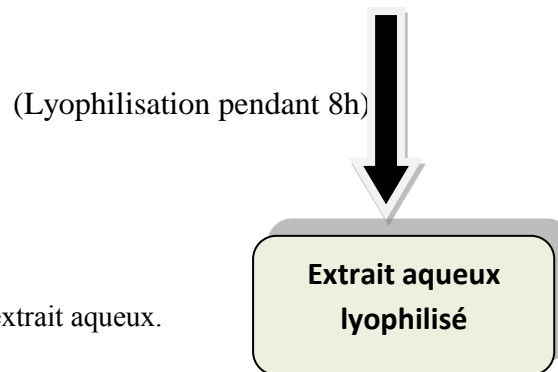


Figure 17 : Les étapes de préparation de l'extrait aqueux.

### I.3. Analyse de l'extrait aqueux des échantillons :

Les analyses faites sont appliquées sur l'extrait aqueux des deux plantes *Salvia officinalis* et *Drimys maritima*.

#### I.3.1. Analyse qualitative de l'extrait des échantillons :

##### I.3.1.1. Tests préliminaires :

###### I.3.1.1.1. Test des composés phénoliques :

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de  $FeCl_3$  y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (Rosine et Momo, 2009).

###### I.3.1.1.2. Caractérisation des flavonoïdes :

A 3ml de l'extrait aqueux, on ajoute 5ml d'HCl, puis quelques morceaux du magnésium. En présence de flavonoïdes, une couleur orange est apparue (Ciulei, 1982).

###### I.3.1.1.3. Caractérisation des tanins condensés :

L'ajout de trichlorure de fer ( $FeCl_3$ ) 1% permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence des tanins galliques, et au bleu verdâtre en présence des tanins catéchiques (tanins condensés) (Dohou et al., 2003).

**I.3.1.1.4. Différentiation des tanins :**

Pour identifier le type des tanins (tanins condensés, tanins hydrolysables), On procède la méthode suivante :

\*Précipitation par le réactif de Stiasny

A 15 ml de l'extrait, on ajoute 8ml de réactif de Stiasny (formaldéhyde à 30% ; 2 volumes + Hcl concentré ; 1 volume), On chauffe le mélange au bain-marie à ébullition pendant 30min.

On note la présence de précipités, donc la présence des tanins condensés. On filtre, puis au filtrat on ajoute l'acétate de sodium jusqu'à saturation. Ensuite on met quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 2%. On obtient une coloration bleu-noire, donc la présence des tanins hydrolysables (**Mamadou, 2002**).

**I.3.1.1.5. Caractérisations des saponines :**

Deux milligrammes de l'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée puis l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 ml de filtrat a été introduit dans un second tube à essai et agité pendant 1 min. Après 15min de repos, l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (**Rosine et Momo, 2009**).

**I.3.1.1.6. Caractérisation des alcaloïdes :**

Le réactif de Mayer a été utilisé pour caractériser la présence des alcaloïdes dans l'extrait aqueux. L'extrait est repris dans quelques ml d'Hcl 50 %.

La formation d'un précipité jaune, après rajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (mercuritéraiodure de potassium ; faites dissoudre 1.36g de chlorure mercurique et 5g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée), témoigne de la présence d'alcaloïdes (**Dohou et al., 2003**).

**I.3.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) :**

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange. Cette technique a été utilisée pour visualiser la séparation des molécules des deux extraits (**Abedini, 2013**).

**Principe :**

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) plongé dans un solvant (phase mobile) qui se déplace par capillarité le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. On peut ainsi caractériser les composés selon leur rapport frontal (RF) (Abedini, 2013).

**Mode opératoire :**

**A / Préparation de la phase mobile :** La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant ce qui facilite et améliore la migration. La phase mobile est constituée d'un mélange de solvants. Différents systèmes solvants ont été essayés pour définir celui qui donne une meilleure séparation (Abedini, 2013).

Selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004) et Botosoa (2010) avec quelques modifications, l'analyse des deux extraits a été réalisée par un système de séparation BAW (Butanol/Acide acétique/Eau) avec des proportions de (60/20/20) (v/v/v).

**B / la phase stationnaire :** La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice sur des plaques en aluminium.

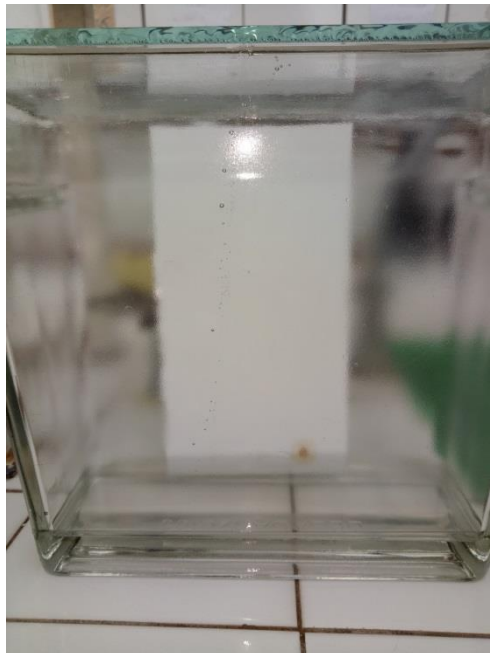
**C / Le dépôt des échantillons :** Les plaques sont découpées aux dimensions voulues. Les deux extraits ainsi que les standards ont été dissous dans de l'eau. Le dépôt de 10µl de chaque extrait (20mg/ml) et des standards : Acide Gallique (1.25mg/ml) se fait avec une pipette pasteur d'une façon perpendiculaire et linéaire, à 1,5cm du bord inférieur de la plaque, et à 1,3cm à partir des bords latéraux, avec 1cm d'espacement, ensuite les plaques sont séchées à l'étuve à 100°C pendant 5min.



**Figure 18** : Le dépôt des échantillons.

A : Sauge officinale / B : Scille maritime / C : Acide gallique

**D / Développement des plaques** : Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (chromatographie ascendante) (Sine, 2003).



**Figure 19** : Développement des plaques.

**E / Révélation du chromatogramme :** Les plaques sont bien séchées, si les constituants sont colorés, ils seront directement visibles sur la plaque, sinon la révélation peut se faire sous UV ou bien par des méthodes chimiques :

- Soit par visualisation des substances ayant migré sous lumière ultraviolette(UV).

Les constituants apparaissent sous forme de taches sombres et fluorescentes.

- Soit par pulvérisation de la plaque avec le réactif eau/acide sulfurique (1v/1v) qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler après chauffage à 100°C pendant 5min.

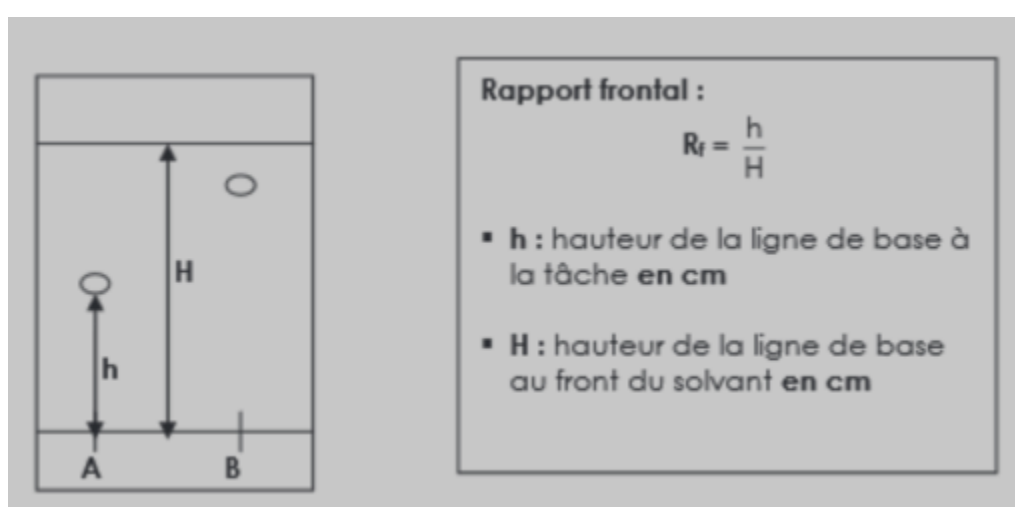


Figure 20 : Méthode de calcul le rapport frontal.

### I.3.2. Analyse quantitative des extraits :

#### I.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles est effectué selon la méthode de Folincioaltea (**Wong et al., 2006**).

Le réactif de Folincioaltea est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique(H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), il réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Brièvement, 200µl de l'extrait (4mg/ml) est ajouté à 1 ml du réactif de FolinCiocaltea (dilué 10 fois par l'eau distillée). Après 4 min, 800µl de Na<sub>2</sub>Co<sub>3</sub> (75g/l) sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation

de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait (µg Eq AG/mg d'extrait).

### **I.3.2.2 Dosage des flavonoïdes :**

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

Principe :

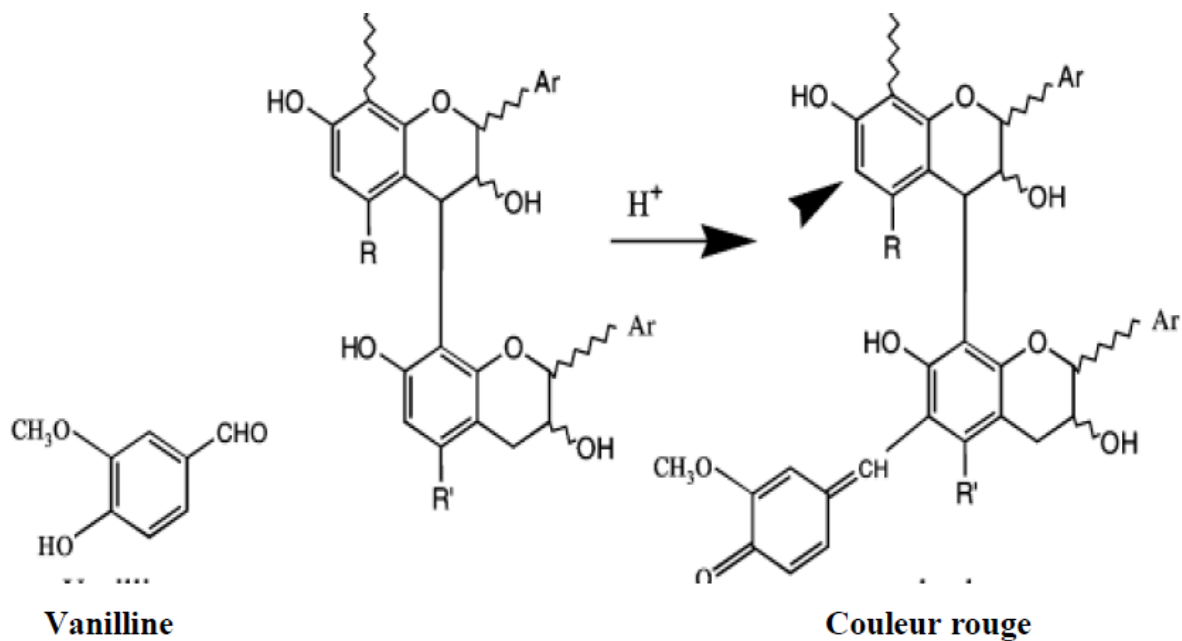
Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**). 1ml l'échantillon et du standard préparé dans l'eau distillée est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 10 min, les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35 µg/ml) et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

### **I.3.2.3 Dosage des tanins condensés :**

Le dosage des tanins condensés est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler et al (2006).

Principe :

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (Swain et Hillis, 1959 ; Oueslati et al., 2012). qui permet la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle (A) de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (**Schofield et al., 2001**).



**Figure 21** : La réaction entre la vanilline est les tanins condensés (Schofield et al., 2001)

Pour 400µl de l'échantillon ou standard, on ajoute 3ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500nm.

Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-300µg/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg ECT/mg).

# Chapitre II :

## Etude de l'activité biologique



## II.1. L'activité antioxydante :

### II.1.1. Le Test de Blanchissement de la $\beta$ -carotène :

Cette technique spectrophotométrique consiste à mesurer la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. L'oxydation de ce dernier génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène (**Tepe *et al.*, 2006**).

Selon la méthode **Dapkevicius *et al* (1998)**. Cinq dilutions ont été préparées pour cette activité.

Selon la méthode de **Tepe *et al.* (2006)** et avec quelques modifications

0,5 mg de Bêta-Carotène a été mélangé avec 100  $\mu$ l de tween 80 et 25  $\mu$ l de l'acide oléique, le tout est ajouté à 1 ml de chloroforme. Le mélange est évaporé à l'aide d'un bain marie puis mélangé à 50 ml de l'eau oxygénée. Dans chaque tube, 500  $\mu$ l de chaque concentration des extraits sont ajoutés à 2 ml de la solution du bêta-carotène, les tubes sont incubés par la suite à 45°C et l'absorbance est enregistré à 470 nm chaque 25 min pendant 1h 40min.

Les pourcentages d'inhibition de blanchiment de la  $\beta$ -carotène ont été calculés par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(D.O \text{ E100} - D.O \text{ t100}) / (D.O \text{ t0} - D.O \text{ t100})] \times 100$$

Tel que :

D.O E100 : Absorbance de l'extrait à t = 100 min.

D.O t100 : Absorbance du témoin négatif à t= 100 min.

D.O t0 : Absorbance du témoin négatif à t = 0 min.

**(Djehim, 2016).**

# 3<sup>ème</sup> Partie : Résultats et Discussions

# Chapitre I :

# Etude phytochimique

## I.1.L'extraction à partir des feuilles de la Sauge officinale et le bulbe de la Scille maritime :

### I.1.1. L'extrait aqueux des deux plantes :

Selon la méthode de **Ghdedba et al (2014)** modifiée, les deux extraits (la Sauge officinale et la Scille maritime) ont été préparés à partir des feuilles et de bulbe. C'est une méthode d'extraction par macération dans l'eau distillée.

Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents.

**Tableau 07 :** La couleur et l'aspect des deux extraits aqueux des feuilles de la sauge officinal et du bulbe de la scille maritime.

L'extrait	L'aspect	La couleur
La sauge officinale	Poudre	Marron foncé
La scille maritime	Poudre	claire

### I.1.2. Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de masse d'extrait par rapport à cent gramme de la plante fraîche (**Mahmoudi et al., 2012**), le rendement le plus élevé a été observé dans l'extrait de la Scille maritime, par rapport à l'extrait aqueux de la Sauge officinale.

Donc la Scille maritime est plus riche en molécules polaires par comparaison avec la Sauge officinale.

**Tableau 08 :** Le rendement des deux extraits aqueux des feuilles de la sauge officinal et de bulbe de la scille maritime (g/100g de plante fraîche).

L'extrait	Le rendement
La Sauge officinale	0.3286g/100g
La Scille maritime	0.9785g/100g



**Figure 22** : L'extrait aqueux des deux plantes après lyophilisation.

**A** : Sauge officinale / **B** : Scille maritime.



Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en métabolites secondaires, et par conséquent affecte les activités biologiques de ces métabolites (Lee et al., 2003).

## **I.2. L'analyse des deux extraits :**

### **I.2.1. Analyse qualitative :**

#### **I.2.1.1. Tests préliminaires :**

Les résultats de la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans les deux extraits aqueux : des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et des saponines se traduisent dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 09 :** Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux de la Sauge officinale et la Scille maritime.

<b>Métabolites testés</b>	<b>Remarques</b>	<b>Résultats</b>
<b>Composés phénoliques</b>	Couleur bleu verdâtre	La sauge : +++ La scille : ++
<b>Flavonoïdes</b>	Couleur orange foncée	La sauge : ++ La scille : +
<b>Saponines</b>	Hauteur de la mousse = 1,5cm	la sauge : - la scille : -
<b>Tanins</b>	Couleur bleu verdâtre	La sauge : + La scille : ++
<b>Tanins condensés</b>	Formation de précipité	La sauge : ++ La scille : +++
<b>Tanins hydrolysables</b>	Couleur bleu- noire	La sauge : - La scille : -
<b>Alcaloïdes</b>	Formation de précipité	La sauge : - La scille : -

-Absence, + Présence, +++ présence plus importante.

Les essais phytochimiques réalisés sur les deux extraits (la Sauge officinale et la Scille maritime) ont révélé la présence des flavonoïdes de type flavones caractérisés par une couleur orange. L'apparition de la couleur bleu-verdâtre reflète la présence des composés phénoliques et des tanins condensés dans les deux extraits via le test de FeCl<sub>3</sub>.

Pour la séparation entre les deux types des tanins (tanins condensés et tanins hydrolysables), un test par le réactif de Stiasny a été réalisé, dont les résultats confirment la présence des tanins condensés par formation d'un précipité, et le manque des tanins hydrolysables par absence de la couleur bleu-noirâtre dans les deux extraits.

Pour La Scille maritime la présence des composés phénolique, flavonoïdes et des tanins est confirmée par l'Etude Phytochimique et Pharmacologique de la Scille Maritime faite par (Virpal Singh et al.,2016) ainsi que celle de (Belhadad et al., 2017) qui montrent que la Scille maritime est constituée de différents composés phénoliques, flavonoïdes et tanins avec des concentrations variantes ainsi que d'autres composants biochimiques spécifiques à la Scille maritime.

### I.2.1.2. Chromatographie analytique sur couche mince :

Pour avoir une empreinte polyphénolique de nos deux extraits, une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant un système solvant moyennement polaire (BAW) Butanol/Acide acétique/Eau (60/20/20) (v/v/v) selon Botosoa (2010).

Sous lumière UV à 254nm, et après une révélation chimique par l'acide sulfurique/eau (1v/1v), les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. L'acide gallique (AG) qui est un acide phénolique est utilisé comme standard.

A / Révélation physique à 254nm,

et chimique par l'acide sulfurique :



Figure 23 : Révélation sous UV à 254nm.

Figure 24 : Révélation chimique par l'acide Sulfurique.

A : Sauge officinale / B : Scille maritime / C : Acide gallique

Une mesure des Rapports frontaux a été effectuée et se présente dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 10 :** Les Rapports frontaux et les couleurs après révélation physique (254 nm), et chimique par l'acide sulfurique.

Standard et Extrait	Rapport frontal (RF)	Couleur après révélation	
		Spot coloré sous UV à 254 nm	Spot coloré par l'acide sulfurique
Acide gallique (AG)	0.87	sombre	Marron foncé
La sauge officinale	0.25	Sombre	/
	0.47	Peu sombre	/
	0.53	/	Jaune clair
	0.67	Sombre	/
	0.72	/	Orange
	0.78	Sombre	/
	0.81	/	Vert
	0.83	/	Marron clair
La scille maritime	0.87	Sombre	Marron foncé
	0.35	Peu sombre	/
	0.52	/	Jaune clair
	0.77	/	Orange
	0.87	Sombre	Marron foncé

Après la révélation physique et chimique du chromatogramme plusieurs taches ont été détectées, parmi lesquelles une tache avec un RF=0.87 est détectée chez les deux extraits aqueux de la Sauge officinale est la Scille maritime, cette dernière correspond à l'acide gallique.



### I.2.2. Analyse quantitative et dosage biochimique :

Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins condensés a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits aqueux préparés à partir des feuilles de la Sauge officinale et du bulbe de la Scille maritime.

Le contenu en polyphénols totaux a été déterminé par la méthode du Folin Ciocalteu (**Wong et al., 2006**), où l'acide gallique a été utilisé comme standard (765nm).

Pour les flavonoïdes, le dosage a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorum, 1996**), en utilisant la quercétine comme standard (430nm).

Les tanins condensés ont été quantifiés selon la méthode de Heimler et ses assistants en 2006 par la vanilline en utilisant la catéchine comme standard (500nm).

Les résultats sont représentés dans le (**tableau : 11**), les diagrammes, et les gammes d'étalonnage dans les (**figures : 27 ; 28 ; 29**).

**Tableau 11** : La teneur en composés phénoliques des deux extraits aqueux de la Sauge officinale et la Scille maritime.

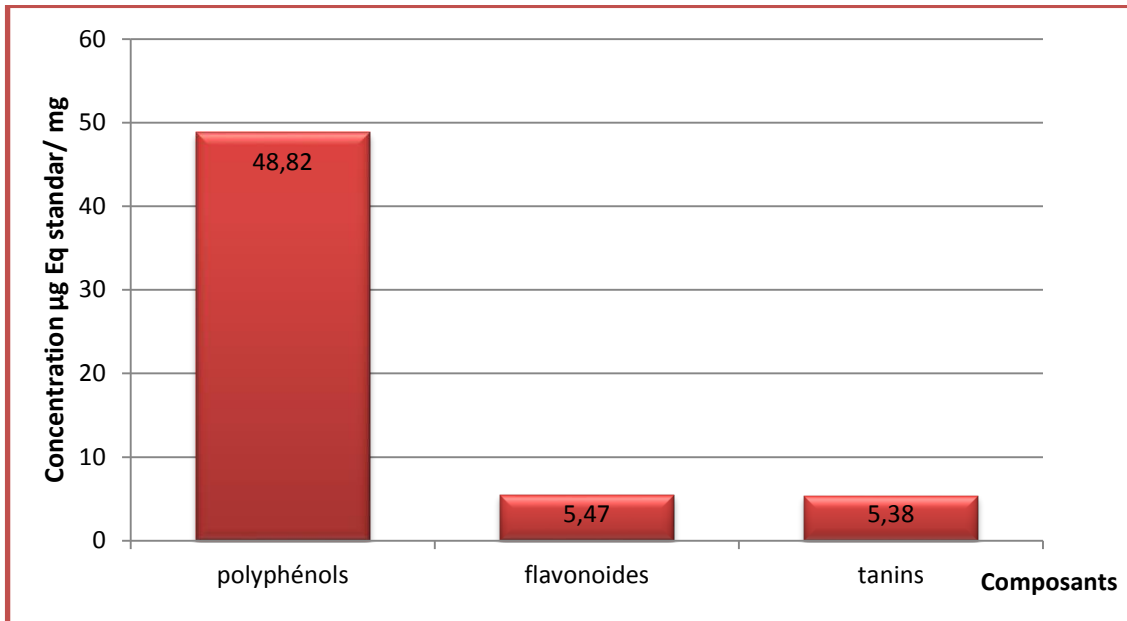
L'Extrait	Polyphénols (a)	Flavonoïdes (b)	Tanins (c)
La Sauge officinale	48.82±2.718	5.47±0.428	5.38±3.894
La Scille maritime	31.86±4.131	1.01±0.035	6.66±2.897

(a) µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

(b) µg d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait.

(c) µg d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait.

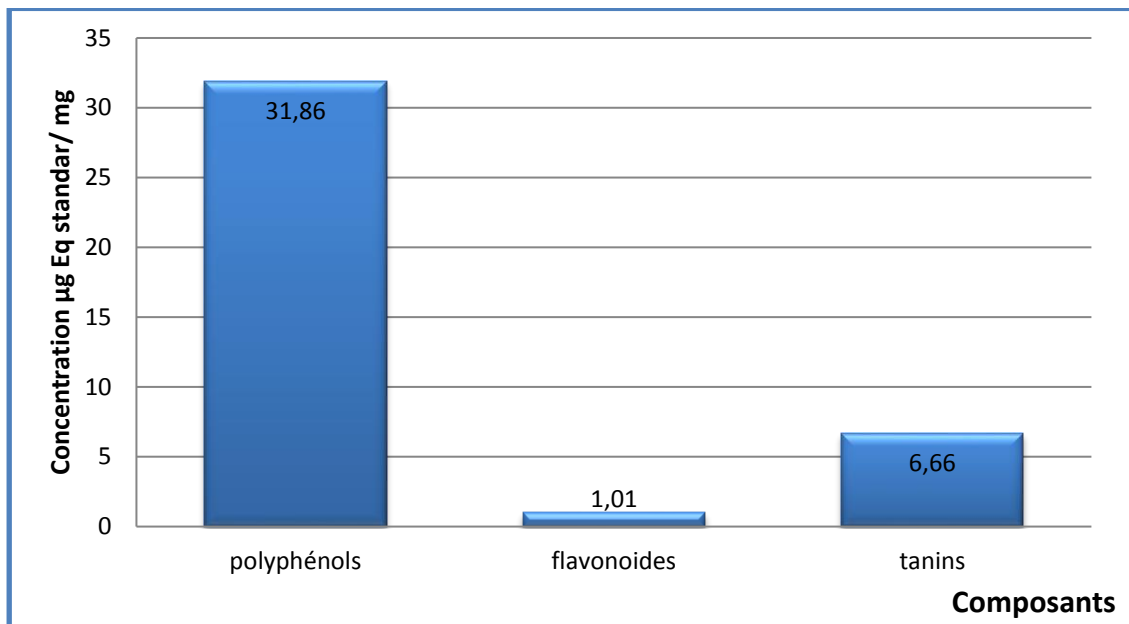
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.



**Figure 25 :** Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins en µgEq standard/ mg de *Salvia officinalis*.

Les résultats obtenus montrent une présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans l'extrait de la Sauge officinale, et d'après ces résultats, une variabilité des teneurs a été constaté : celle des polyphénols est plus élevée ( $48.82 \pm 2.718$  ug EAG / mg d'extrait) en comparant avec la teneur en Flavonoïde ( $5.47 \pm 0.428$  ug EQ / mg d'extrait) et tanins ( $5.38 \pm 3.894$  ug ECT / mg d'extrait), Ce qui est confirmé par l'étude faite par **(Fecka et Turek, 2007)** sur le dosage de polyphénols des feuilles de *Salvia officinalis* ( $19.0 \pm 8.3$  ug EQ / mg d'extrait) et la teneur en flavonoïdes ( $11.8 \pm 1.8$  ug EQ / mg d'extrait).

Les résultats qu'on a obtenus sont aussi compatibles avec celle de l'étude récemment faite par **(Dent et al., 2017)** sur la composition phénolique et le pouvoir antioxydant de la Sauge officinale et qui montre une quantité élevée des phénols ( $6.384 \pm 21.21$ ) en comparant avec la quantité des flavonoïdes ( $1.905 \pm 26.16$ ).



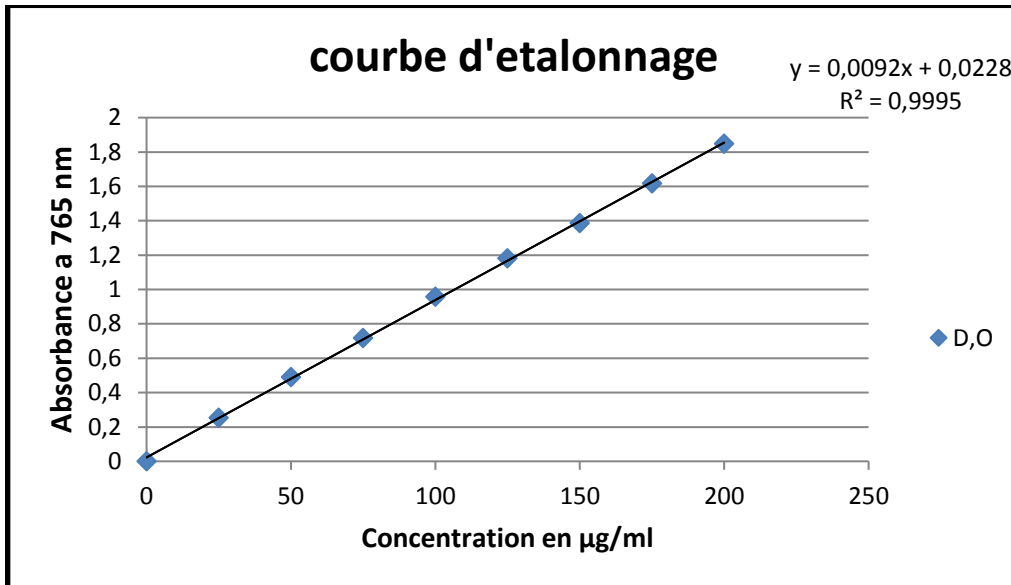
**Figure 26 :** Teneur des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins en  $\mu\text{g Eq standard/ mg}$  de *Drimia maritima*.

On observant les résultats obtenus dans l'analyse quantitative de la Scille maritime, on constate une dominance des polyphénols ( $31.86 \pm 4.131 \text{ ug EAG / mg d'extract}$ ) par rapport au tanins ( $6.66 \pm 2.897 \text{ ug ECT / mg d'extract}$ ) qui sont en deuxième position et finalement les flavonoïdes avec une faible teneur ( $1.01 \pm 0.035 \text{ ug EQ / mg d'extract}$ ) ces résultats sont confirmés par l'étude de **(Piluzza et Bullitta, 2013)** qui indique une omniprésence des polyphénols en comparant avec la concentration des tanins et flavonoïdes dans la Scille Maritime et aussi l'étude faite par **(Knittel et al., 2014)** et qui montre une dominance des composés phénoliques dans l'extract de *Drimia maritima* a côté d'autres composants.

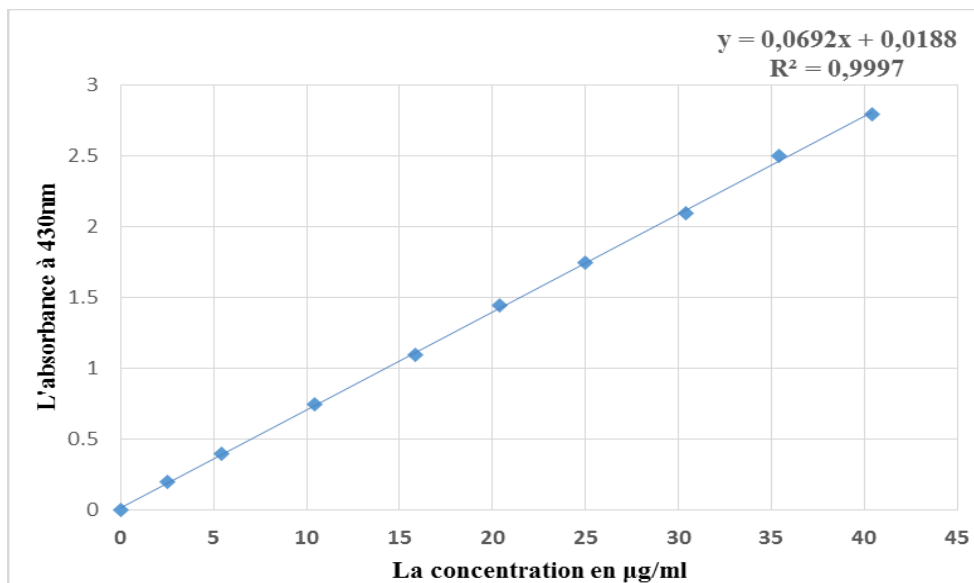
Ainsi que l'étude faite récemment par **(Belhedad et al., 2017)** sur le dosage des composants phénoliques ( $234.25 \pm 0.35 \text{ ug EAG / mg d'extract}$ ) et des flavonoïdes ( $11.42 \pm 0.35 \text{ ug EAG / mg d'extract}$ ).

D'autre coté la partie étudier pour cette plante est la partie enterré (le bulbe de la Scille maritime) ou la présence des flavonoïdes n'est pas nécessaire par rapport à la présence des tanins.

Les résultats de l'analyse quantitative des deux extraits de la Sauge officinale et la Scille maritime sont compatibles avec les résultats qualitatifs.



**Figure 27 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de deux essais).



**Figure 28 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne ± SD de deux essais).

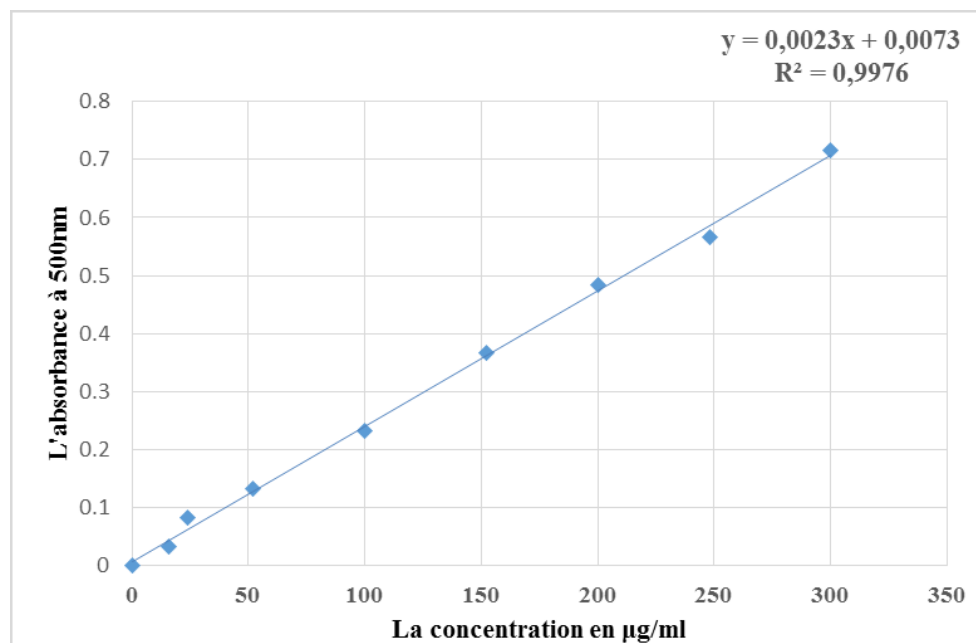


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (moyenne  $\pm$  SD de deux essais).

# Chapitre II :

## Etude de l'activité biologique

## II.1. L'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des deux extraits aqueux de la Sauge officinale et la Scille maritime a été évaluée selon la méthode de Test de Blanchissement de  $\beta$ -carotène.

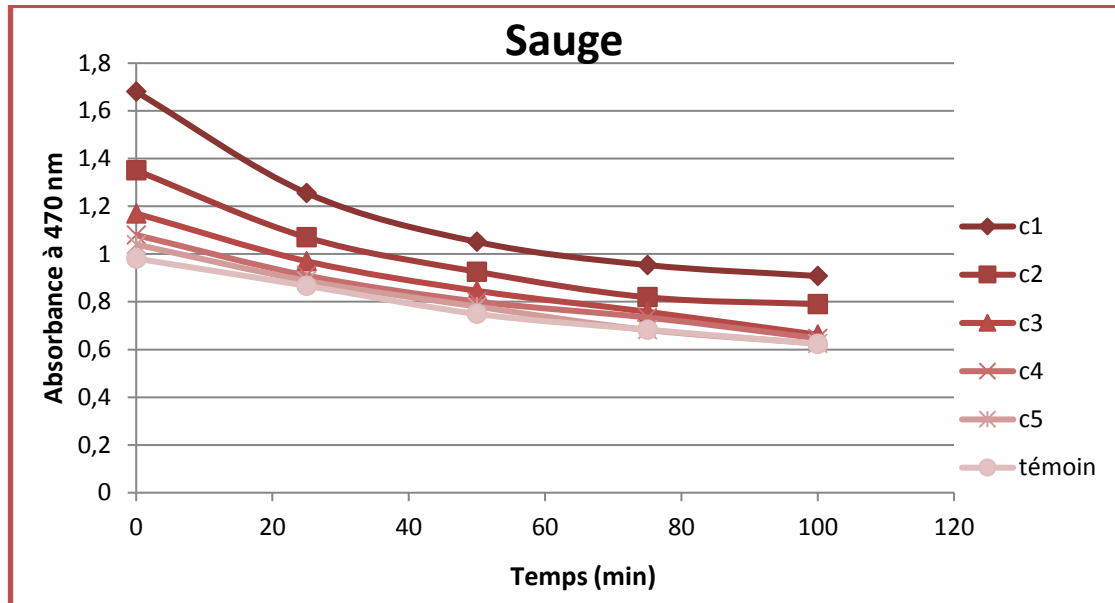
Cette technique spectrophotométrique permet de mesurer le blanchissement du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de la décomposition de l'acide oléique, alors la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide oléique et donc prévenir l'oxydation et la décoloration du  $\beta$ -carotène.

Par des dilutions en cascade des deux extraits de la Sauge officinale et la Scille maritime, pour chaque concentration, nous mesurons les densités optiques à 470 nm.

Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait qui sont représentés dans les figures (30,31).

**Tableau 12** : L'évolution de la densité optique des différentes concentrations de l'extrait de *Salvia officinalis* dans 100 min.

	Temps (min)				
	0	25	50	75	100
[C]mg/ml	D.O				
C1=10	1,68	1,256	1,051	0,954	0,908
C2=5	1,35	1,07	0,926	0,819	0,79
C3=2.5	1,17	0,97	0,846	0,758	0,662
C4=1.25	1,08	0,91	0,801	0,734	0,647
C5=0.62	1,04	0,888	0,78	0,682	0,625
témoin	0,981	0,867	0,749	0,683	0,624

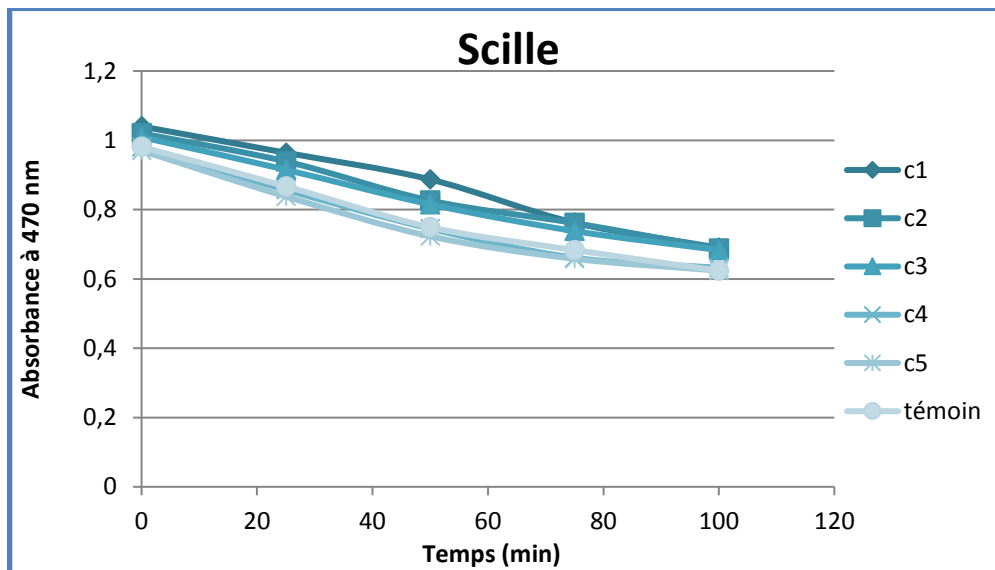


**Figure 30 :** Courbe de l'évolution du blanchissement de la  $\beta$ -carotène dans l'extrait de la Sauge officinale.

**Tableau 13 :** L'évolution la densité optique des différentes concentrations de l'extrait de *Drimia maritima* dans 100 min.

[C]mg/ml	Temps (min)				
	0	25	50	75	100
	D.O				
C1=10	1,04	0,964	0,887	0,762	0,69
C2=5	1,02	0,939	0,826	0,761	0,687
C3=2.5	1,009	0,915	0,815	0,738	0,683
C4=1.25	0,98	0,857	0,745	0,661	0,632
C5=0.62	0,97	0,838	0,723	0,658	0,624
témoin	0,981	0,867	0,749	0,683	0,624





**Figure 31** : Courbe de l'évolution du blanchissement de la  $\beta$ -carotène dans l'extrait de la Scille maritime.

D'après les deux profils de la Sauge officinale et la Scille maritime :

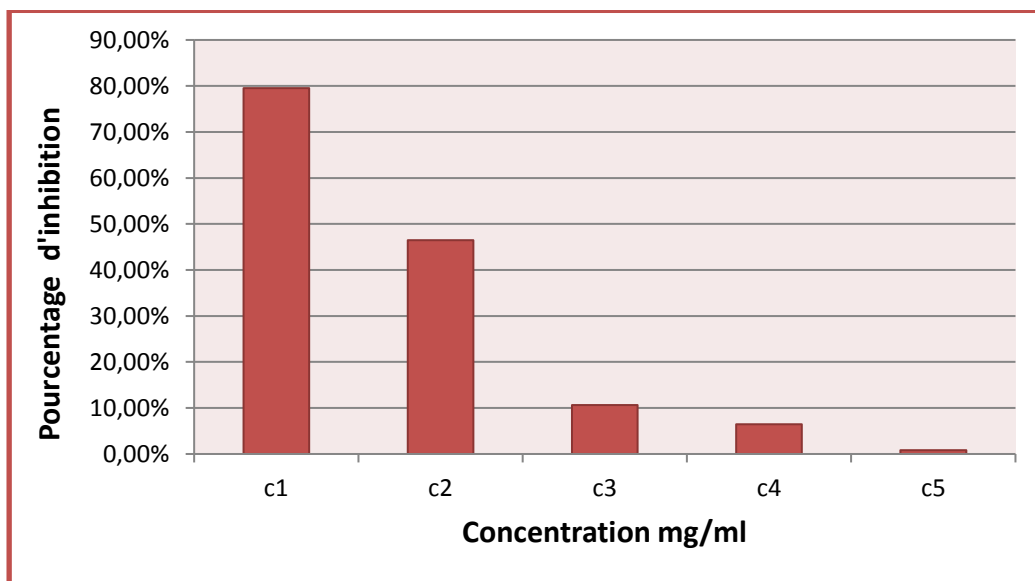
Il y a une diminution progressive de la densité optique, ceci est dû à l'augmentation du blanchissement du  $\beta$ -carotène au cours du temps, dont la température élevée provoque la décomposition de l'acide oléique. L'oxydation de ce dernier génère des radicaux peroxydes ce qui provoque une décoloration de  $\beta$ -carotène ce qui diminue l'absorbance des deux extraits aqueux.

Pour la Sauge officinale les résultats sont confirmés par l'étude faite par (**Hamrouni-Sellami et al., 2013**) et qui montre l'apparition du blanchissement de  $\beta$ -carotène ( $0.0402 \pm 0.91$  IC50, mg ml<sup>-1</sup>) ce qui prouve que la Sauge officinale possède une activité antioxydante puissante.

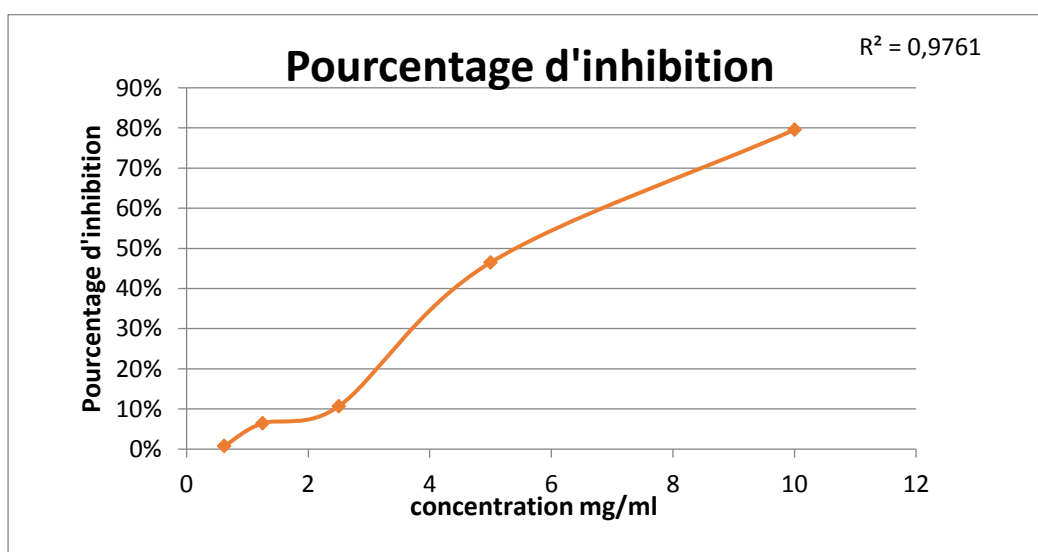
Concernant la Scille maritime, l'étude faite par (**Piluzza and Bullitta, 2013**) a confirmé que cette dernière possède une activité antioxydante prouvée par la diminution du blanchissement du  $\beta$ -carotène ce qui aussi montré dans l'étude de (**Belhedad et al, 2017**).

**Tableau 14 :** Pourcentage (%) d'inhibition de blanchiment du  $\beta$ -carotène dans l'extrait de la Sauge officinale.

concentration	%inhibition
c1	79,55%
c2	46,49%
c3	10,64%
c4	6,44%
c5	0,80%



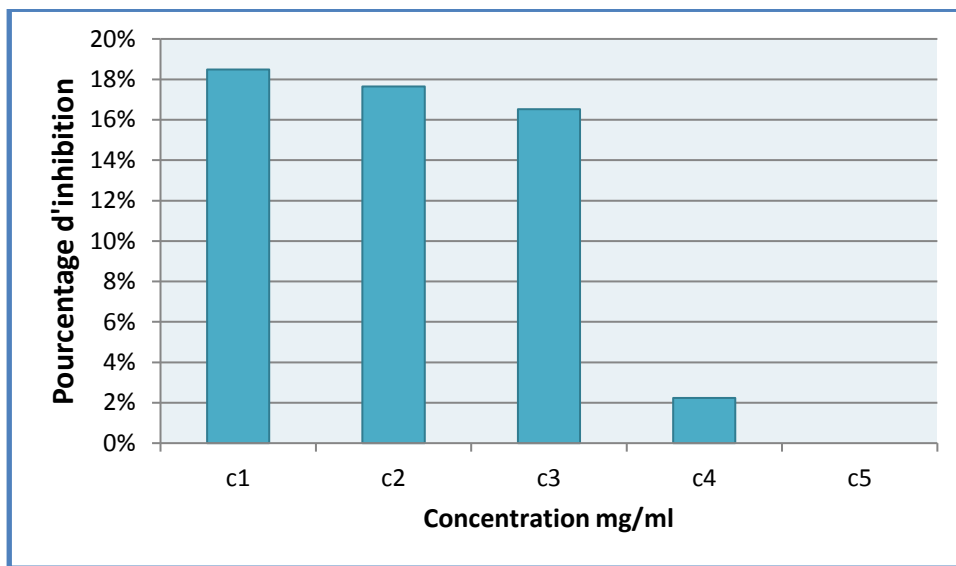
**Figure 32 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène de différente concentration de l'extrait de la Sauge officinale.



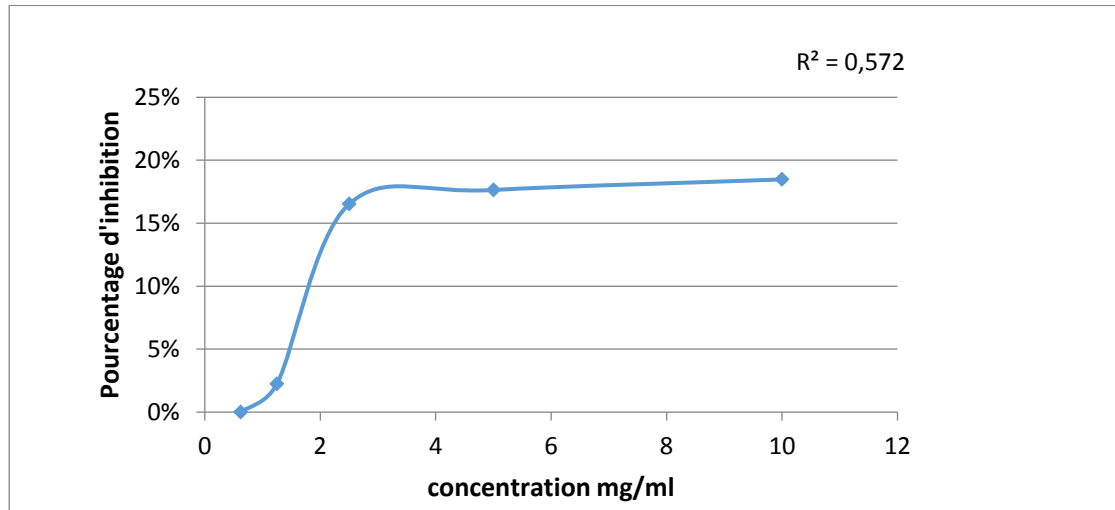
**Figure 33 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène de différente concentration de l'extrait de la Sauge officinale.

**Tableau 15 :** Pourcentage (%) d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène dans l'extrait de la Scille maritime.

concentration	%inhibition
c1	18%
c2	17,64%
c3	16,52%
c4	2,24%
c5	0%



**Figure 34 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène de différente concentration de l'extrait de la Scille maritime.



**Figure 35 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène de différente concentration de l'extrait de la Scille maritime.

D'après les résultats de blanchissement du  $\beta$ -carotène obtenu il paraît que l'activité antioxydante pour les deux extraits est concentration dépendante.

Pour une concentration de 10 mg/ml le pourcentage d'inhibition de la Sauge officinale est égal à 79.55% et pour la même concentration de la Scille maritime le pourcentage d'inhibition de cette dernière est égal à 18%.

Donc le seuil de l'activité antioxydante chez la Sauge officinale est plus élevé que celui de la Scille maritime ce qui est confirmé par les résultats des analyse quantitative et qualitative (la teneur en polyphénol, flavonoïde et tanins).

# Conclusion générale

## Conclusion :

L'Algérie dispose d'une diversité floristique exceptionnelle, plusieurs espèces sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner les différentes maladies et les infections.

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous-exploitées dans le domaine médical.

Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants naturels doit être à l'ordre du jour.

Dans le cadre de notre travail nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant de l'extrait de La Sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la Scille maritime (*Drimys maritima*), dont cette activité n'était jamais étudiée pour cette dernière par la méthode que nous avons choisie, nous a permis d'extraire des résultats curieux.

Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dans ces extraits, et la chromatographie sur couche mince analytique sur gel de silice, a démontré après révélation physique et chimique la présence d'une multitude de variétés de composés : comme l'acide gallique dans l'extrait aqueux des deux plantes étudiées.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin Ciocalteu révèle que nos deux extraits contiennent principalement des polyphénols à des concentrations dominantes. De même nous avons dosé les tanins par la méthode de la vanilline, et les flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) ce qui nous a permis de remarquer leur présence dans les deux extraits en proportions différentes.

Il ressort de ces analyses que l'extrait aqueux de la Sauge officinale est le plus riche en polyphénols et flavonoïdes, par contre, l'extrait aqueux de la Scille maritime est le plus riche en tanins.

La technique utilisée pour étudier l'activité antioxydante de l'extrait des deux plantes est la méthode de  $\beta$ -carotène qui a révélé que les deux extraits ont une activité antioxydante différentes, mais la concentration dépendante sachant que l'extrait aqueux de la Sauge Officinale est le plus actif.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une petite partie de la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives, nous envisageons

comme perspective d'utiliser des méthodes modernes pour l'extraction des principes actifs, et de valoriser leur présence par des techniques précises et sensible comme la chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (CPG-SM), la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la chromatographie liquide haute performance(l'HPLC).

# Références bibliographiques



**-A-**

**Abedini Amin.**(2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II,. Français.

**-B-**

**Boizot N et Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *INRA*, 79, 82.)

**Bahorun, T. (1997)** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, 83-94.

**Belhaddad Oum Elkheir, Charef Nouredine, Amamra Samra, Zerargui Fatima, Baghiani Abderrahmane, Khennouf Seddik , Arrar Lekhmici .**January 2017. Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritima* methanolic extract Article in Pakistan journal of pharmaceutical sciences .

**Bruneton Jean.** (2009). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales 4eme édition. Page 937-938, page 261, page 442-444

**Bogdani eni M.** (2011). Etude expérimentale et optimisation du procédé de lyophilisation de l'ibuprofène en milieu organique.

**Boizot Nathalie et Charpentier Jean-Paul.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques.

**Borgers Yves.** La plante du mois de septembre : la sauge officinale (*Salvia officinalis* L.)

**-C-**

**Chevallier Andrew. (1996).** The Encyclopedia of Medicinal Plants: A Practical Reference Guide to over 550 Key Herbs and Their Medicinal Uses

**Chalmers L , Gemmill, M.D.** (1974). The Pharmacology of squill .

**Cox Paul Alain et Balick Michael J.**(1994). The Ethnobotanical Approach To Drug Discovery . SCIENTIFIC AMERICAN. VOL 270, NO.6 PP.82-87.

**Ciulei I.** (1982) Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manual on the Industrial Utilisation of Medicinal and Aromatic Plants.

**Cronquist Arthur.** (1981) .An Integrated System of Classification of Flowering Plants

**Chabrier Jean-Yves.** (2010). MÉDICINALES ET FORMES D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE.

### **-D-**

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

**Djeghim Hanène.** (2016). Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne du Genre *Genista* (Fabaceae).Université des Frère Mentouri Constantine.

**Dent Maja, Bursać Kovačević Danijela, Bosiljkov Tomislav, Dragović-Uzelac Verica.** (2017). Polyphenolic Composition and Antioxidant Capacity of Indigenous Wild Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.). Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Croatia.

### **-E-**

**El fennouni Meryem.** (2009). Truelle A. Scille maritime. *Le jardin familial des plantes médicinales.* (Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'AVORTEMENT AU MAROC).

### **-F-**

**Favier Alain.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines.

**Favier Alain.** (Janvier - Février1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur, Volume 55, numéro 1, Janvier - Février 1997.

**Favier Alain.** (novembre-décembre 2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique

**Fecka Izabela et Turek Sebastian.** (2007). Determination of Water-Soluble Polyphenolic Compounds in Commercial Herbal Teas from Lamiaceae: Peppermint, Melissa, and Sage .Department of Pharmacognosy, Wrocław Medical University, pl. Nankiera 1, 50-140 Wrocław, Poland

**Fruleux Loïc.** (2008-2009). L3 environnementaliste, Monographie Salvia officinalis.

### **-G-**

**Grait Souâd.** (2014). Etude du pouvoir antioxydant d'une plante médicinale (*Urginea maritima L*)

**Gravot Antoine.** (2008/2009). Support de cours sur le métabolisme secondaire (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV) Université de Rennes 1 – L2 UE PHR.

**Gazengel jean Marie et orecchioni Anne-Marie.**(2013). Lavoisier. Le préparateur en pharmacie 2eme édition .coordonnateurs.page 1165,1174

**Goudable Joëlle, Favier Alain.** (1996). Radicaux libres oxygénés et antioxydants (Dr J. Goudable, laboratoire de biochimie C, Hopital Edouard-Herriot, 69437 Lyon cedex 03. ---- Nutr Clin Mdtabol 1997; 11:115-20.

**Ghedadba N, Bousselfela H, Hambaba L, Benbia S, Mouloud Y.** (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de marrubium vulgar L.

### **-H-**

**Hamrouni-Sellami Ibtissem, Rahali Fatma Zohra, Bettaieb Rebey Iness, Bourgou Soumaya, Limam Ferid, Marzouk Brahim.** (2013). Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis L.*) Plants as Affected by Different Drying Methods . Food Bioprocess Technol 6:806–817

**Heimler Daniela, Vignolini Pamela, Giulia Dini Maria, Vincieri Franco Francesco, Romani Annalisa.** (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry* 99 :464–469

**Haleng J (1), Pincemail J (2), Defraigne J.O (3), Charlier C (4), Chapelle J.P (5).** (2007). Le stress oxidant.

**Hammiche Victoria, Merad Rachida, Azzouz Mohamed.** (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen page 227-231.

**Hammiche Victoria.** (2014). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle.

#### **-I-**

**Institut européen des substances Végétales.** (2015-2016). Les plantes médicinales

#### **-J-**

**Joly Arnaud.** (Le 11 Juin 2010). INTOXICATION DIGITALIQUE NON MEDICAMENTEUSE :Un RISQUE NON NÉGLIGEABLE.

#### **-K-**

**Knittel Diana N et Stintzing Florian C & Kammerer Dietmar R.** (2014). Simultaneous determination of bufadienolides and phenolic compounds in sea squill (*Drimia maritima* (L.) Stearn) by HPLC-DAD-MSn as a means to differentiate individual plant parts and developmental stages.

**Ki won, Young jun, Hyong Joo et ChangYong Lee.** (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, 51: 7292-7295. Department of Food Science and Technology, Cornell University, Geneva, New York 14456; and Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca, New York 14853

#### **-L-**

**Lachèvre Marc.** (janvier 2010). La théorie des signatures, *Biocontact*, no 198, p. 62-66).

**-M-**

**Mamadou. (2002).** Action Pharmacologique des tannins. Université CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR.

**Mahmoudi S, Khali M, et Mahmoudi N. (2012).** Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques 2013, 9 : 36.

**Momo Dongmo Rosine Clémence. (2009).** Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*acalyphamanniana* (euphorbiacées) et *tristemma hirtum* (mélastomatacées). Université de Dschang - Master en biochimie clinique et pharmacologie

**-N-**

**Nejatbakhsh F<sup>1</sup>, Karegar-Borzi H<sup>1</sup>, Amin G<sup>2</sup>, Eslaminejad A<sup>3</sup>, Hosseini M<sup>4</sup>, Bozorgi M<sup>5</sup>, Gharabaghi MA<sup>6</sup>. 2017.** Squill Oxymel, une formulation traditionnelle de *Drimia Maritima* (L.) Stearn, en tant que traitement complémentaire chez les patients atteints d'asthme persistant modéré à sévère : Essai pilote randomisé en triple aveugle.

**-P-**

**Piluzza Giovanna et Bullitta Simonetta. (2013).** Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area C.N.R.-ISPAAM-Istituto per il Sistema Produzione Animale in Ambiente Mediterraneo Li Punti, Sassari, Italy.

**-R-**

**Rougies Romain. (2018).** La Saugue officinale (*Salvia officinalis*).

**Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, et Ribéreau-Gayon P. (1968).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Edition. Dunod, Paris.

**-S-**

**Sofowora Abayomi. (2009).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, 2<sup>ème</sup> édition

**Sine J. P.** (2003). Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses éditions marketing S A. p 99-101.

**Schofield P, Mbugua D. M., et Pell A. N.** (2001). Analyses of condensed tannins: a review An-imal. Food and Technology, 91 : 21-40.

**Sergent O, Griffon B, Cillard P, Cillard J.** (2000). Alcool et stress oxydatif Laboratoire de biologie cellulaire et végétale, faculté de pharmacie, 2, avenue Pr. Léon Bernard, 35043 Rennes cedex, France

**-T-**

**Tessier F et Marconnet P.** (1994). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice, Laboratoire de biomécanique et biologie de l'exercice, Faculté' des sciences du sport, université' de Nice Sophia Antipolis.

**-V-**

**Virpal Singh, Lokesh kumar S, Sonal D, Satyendra Kumar J, Pradip P, M.P. Dobhal.** (2016). Phytochemicals and Pharmacological Properties of Urginea Species .INDIA

**Vergely Catherine et Rochette Luc.** (septembre 2005). Le stress oxydatif.

## Webographie

[site1] (<http://www.magicmaman.com/enceinte-je-me-soigne-au-naturel,2701364,3442946.asp>).

[site2] [Alger-roi.fr/Alger/documents\\_algeriens/economique/pages/98\\_scille\\_raticide.htm](http://Alger-roi.fr/Alger/documents_algeriens/economique/pages/98_scille_raticide.htm).

[site3] <http://duchampalatable.inist.fr/spip.php?mot428>.

[site4] [http://www.ecosociosystemes.fr/metabolisme\\_secondaire.html](http://www.ecosociosystemes.fr/metabolisme_secondaire.html).

[site5] <http://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/74186>.

[site6] [http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo104\\_34.htm](http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo104_34.htm).

[site7] <http://www.wikiwand.com/fr/Monoterp%C3%A8ne> .

[site8] [https://www.researchgate.net/figure/Structure-de-base-de-quelques-tanins\\_fig9\\_309160370](https://www.researchgate.net/figure/Structure-de-base-de-quelques-tanins_fig9_309160370).

[site9] <https://www.universalis.fr/encyclopedie/lyophilisation/2-principe/>.

Etude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de deux plantes :  
*Salvia officinalis* et *Drimia maritima*

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

**Résumé :**

Les extraits naturels de plantes médicinales contiennent une grande variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de deux plantes : la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la Scille maritime (*Drimia maritima*).

L'analyse qualitative de ces deux extraits par les tests préliminaires et la CCM a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins et des flavonoïdes ; ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques, des tanins, et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques ( $48.82 \pm 2.718$  ug EAG / mg d'extrait), les tanins ( $5.38 \pm 3.894$  ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes ( $5.47 \pm 0.428$  ug EQ / mg d'extrait) pour l'extrait aqueux de la Sauge officinale (*Salvia officinalis*), et pour l'extrait aqueux de la Scille maritime (*Drimia maritima*) on a les valeurs suivantes : pour les composés phénoliques ( $31.86 \pm 4.131$  ug EAG / mg d'extrait), les tanins ( $6.66 \pm 2.897$  ug ECT / mg d'extrait) et les flavonoïdes ( $1.01 \pm 0.035$  ug EQ / mg d'extrait).

L'activité antioxydante a été établie par Le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène qui a avéré que l'activité d'inhibition de l'extrait aqueux de la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) est de l'ordre de 79.55% qui est plus élevée par rapport à l'activité d'inhibition de l'extrait aqueux de la Scille maritime (*Drimia maritima*) qui est de l'ordre de : 18%.

**Mots clés :** Sauge officinale (*Salvia officinalis*), Scille maritime (*Drimia maritima*), composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, test de blanchissement de  $\beta$ -carotène.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de biochimie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** BAALI NACERA (MC-B-UFM Constantine).

**Rapporteur :** DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMIA (M-A- UFM Constantine).

**Examineur :** BAHY AHLEM (MC-B-UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 01/07/2018