



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



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

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

**Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante
médicinale : *Euphorbia characias L.***

Présenté et soutenu par :

BERKAL Garmia

BOUCHAMA Sara

Le : /06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : HALMI Sihem (maitre de conférence B).

Rapporteur : MAAMERI-HABIBATNI Zineb (maitre de conférence B).

Examineur : MADI Aicha (maitre assistante A).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciement

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A *ALLAH* le tout puissant qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui.

Car l'homme propose mais *ALLAH* dispose. Seigneur, veuillez toujours

diriger mes pas.

Nous tiens à adresser mes très sincères remerciements à Notre directrice de

mémoire madame Maameri *Habibatni zineb* qui nous a guidé dans notre

travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très

patient avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Les membre de

jury Dr *Halmi siham* et Madi Aicha, qui ont accepté de juger Notre travail.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée, je lui dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à:

Mes sœurs : *SALIHA, HANAN, SOUAD, SOUMIA, HAKIMA.*

Et

Mes frères : *ABD RAZAK et MOUHAMAD AMINE.*

Et A mon binôme sara

Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement

à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.

Et

Mes amies : *AMIRA, ZINEBE, SAMIRA, SOMIA .*

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A mes parents

*Qui m'ont transmis de l'amour la joie le courage et pour l'éducation qu'ils
m'ont prodigué*

*Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma
considération et mes profonds sentiment envers eux je prie mon dieu de les
bénir de veiller sur eux j'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

A mes sœurs et mon frère

*Mariam, Amina, khaoutar et Amine. Pour votre soutien moral et
encouragements vous m'avez appris la patience et la concentration sur
mon travail. Je vous souhaite un avenir plein d'amour, de bonheur et de
succès. Je vous aime beaucoup.*

A mon binôme Gamra

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement
à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

A mes Amis

*Je vous dédie ce travail à Loubna, Amira, Zineb, Somia, Samira pour les
moments que vous avez vécu ensembles et les souvenirs*

SOMMAIRE

Liste des abreviations.....I

Liste des figures.....II

Liste des tableaux.....III

Introduction générale1

Revue bibliographique.

Chapitre 1: *Euphorbia characias L.*

1. Généralités	3
2. Position systématique	4
3. Description botanique	4
4. Répartition géographique.....	7
5. Les conditions de culture.....	8
6. Utilisations médicinales.....	10
7. Utilisations traditionnelles.....	10
8. Toxicité du latex de l'Euphorbia.....	10

Chapitre 2: Les métabolites secondaires

1. Définition.....	11
2. Classification des métabolites secondaires.....	11
3. Les composés phénoliques	
3.1. Définition.....	11
3.2. Structure chimique.....	12
3.3. Biosynthèse des polyphénols.....	13
3.4. Propriétés biologiques des polyphénols.....	14
3.5. Classification des polyphénols.....	14
3.5.1. Les acides phénoliques.....	14
3.5.2. Les flavonoïdes	
3.5.2.1. Définition.....	14
3.5.2.2. Structure des flavonoïdes.....	15
3.5.2.3. Classification des flavonoïdes.....	16
3.5.3. Les lignanes.....	17
3.5.3.1. Définition.....	17
3.5.4. Les stilbènes.....	17
3.5.4.1. Définition.....	17

3.5.5. Les coumarines.....	18
3.5.5.1. Définition.....	18
3.5.6. Les tannins.....	19
3.5.6.1. Définition.....	19
3.5.6.2. Classification.....	19
4. Les alcaloïdes.....	20
4.3. Définition.....	20
4.4. Propriétés des alcaloïdes.....	20
4.5. Structure des alcaloïdes.....	20
4.5.1. Les alcaloïdes vrais.....	20
4.5.2. Les pseudo-alcaloïdes.....	21
4.5.3. Les proto-alcaloïdes.....	21
4.6. Classification des alcaloïdes.....	21
5. Les terpenoïdes.....	23
5.3. Définition.....	23
5.4. Structure des terpenoïdes.....	23
5.5. Classification des terpenoïdes.....	24
5.5.1. Hémiterpènes.....	24
5.5.2. Monoterpènes.....	24
5.5.3. Sesquiterpènes.....	25
5.5.4. Diterpènes.....	25
5.5.5. Triterpènes.....	26
5.5.6. Tetraterpènes.....	26
5.5.7. Polyterpènes.....	26

Chapitre 3: Le stress oxydant

1. Définition de stress oxydant.....	28
2. Les radicaux libres.....	28
3. Origine des radicaux libres.....	30
2.1. Sources exogènes.....	30
2.2. Sources endogènes.....	30
4. Les principaux types des espèces réactives d'oxygène (ERO).....	31
4.1. L'anion superoxyde O_2^{\bullet}	31
4.2. Radical hydroxyle OH^{\bullet}	31
4.3. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	31

4.4. Monoxyde d'azote NO•.....	31
5. Les antioxydants	32
5.1. Les antioxydants non enzymatiques.....	33
5.1.1. Vitamine C.....	33
5.1.2. Vitamine E.....	34
5.1.3. Glutathion.....	34
5.1.4. Les polyphénols.....	34
5.1.5. Les caroténoïdes.....	35
5.2. Les antioxydants enzymatiques.....	35
5.2.1. Syperoxyde dismutase (SOD).....	35
5.2.2. Catalase.....	36
5.2.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	36
6. Méthode de dosage de l'activité antioxydant	37

Chapitre 4: Matériel Et Méthodes

1. Matériel.....	38
1.1. Matériel végétal.....	38
1.2. Animaux et les conditions d'hébergement et alimentation	39
1.3. Réactifs chimiques.....	39
1.4. Appareils utilisés	39
2. Méthodes.....	39
2.1. Préparation des extraits végétaux.....	40
2.1.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole.....	40
2.1.2. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique	40
2.2. Criblage phytochimique.....	42
2.2.1. Quinones libres.....	42
2.2.2. Alcaloïdes.....	42
2.2.3. Tanins.....	42
2.2.4. Tanins vrais.....	42
2.2.5. Saponines.....	43

2.2.6. Stéroïds et polyterpènes.....	43
2.2.7. Flavonoïdes (cyanidine).....	43
2.2.8. Sucres réducteurs.....	43
2.3. Dosage colorimétrique (spectrophotométrique).....	43
2.3.1 Dosage des polyphénols totaux	43
2.3.1. Dosage des flavonoïdes.....	44
2.4. Evaluation de l'activité biologique in-vitro.....	44
2.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant par le DPPH.....	44
2.4.2. Pouvoir réducteur	46
2.5. Evaluation de l'activité biologique in vivo	46
2.5.1. Test de l'activité antalgique.....	46

Chapitre 5: Résultats et discussion

1. Criblage phytochimiques.....	48
2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	50
3. Test de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	53
3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH.....	53
3.2. Pouvoir réducteur	55
4. Evaluation l'activité antalgique in vivo de	57
Conclusion générale et perspectives.....	60

Références bibliographiques

Les annexes

Résumé

Liste des abréviations

% : pourcentage.

µg : microgramme.

ml/kg : millilitre par kilogramme.

A : absorption.

CI50 : concentration inhibitrice a 50%.

DO : densité optique.

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

EAG : équivalent d'acide gallique.

EQ : équivalent de quercétine.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

Fe⁺³: fer ferrique.

Fe²⁺: fer ferreux.

g: gramme.

GPx : glutathion peroxydase.

GSH: glutathion réduit.

GSHPx: glutathions peroxydases

H: hydrogène.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

IP : intrapéritonéale.

MeOH : méthanol.

mg/g : milligramme par gramme.

mg/kg : milligramme par kilogramme

NADPH : nicotinamide adenine di nucleotide phosphate hydrogynase.

NC : nombre de contorsions.

NO. : le monoxyde d'azote.

O₂⁻ : l'anion superoxyde.

O₂: oxygène.

ONOO⁻ : le peroxydinitrite.

PI%: pourcentage d'inhibition.

PM : poids moléculaire.

PP : polyphénols

RL : radicaux libres.

RLO : radicaux libres oxygène

ROS : réactifs oxygène species (dérivés réactifs de l'oxygène).

SM : métabolites secondaires.

SOD: super oxyde dismutases.

TCs : les tannins condensés

THs : les tannins hydrolysables

UV-VIS : ultraviolet-visible.

Liste des figures

Figure1 : inflorescence <i>Euphorbia characias</i> L.....	5
Figure 2 : tige d' <i>Euphorbia characias</i> L.....	6
Figure 3 : feuille d' <i>Euphorbia characias</i> L.....	6
Figure 4 : fleurs d' <i>Euphorbia characias</i> L.....	7
Figure 5 : <i>Euphorbia characias</i> L.....	7
Figure 6 : type de sol de culture de <i>l'Euphorbia characias</i> L.....	8
Figure 7 : les conditions de la culture de <i>l'Euphorbia characias</i> L.....	9
Figure 8 : représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.....	13
Figure 9 : structure de base des flavonoïdes.....	15
Figure 10 : structure des lignanes.....	17
Figure 11 : structure d'un stilbène.....	18
Figure 12 : squelette de base des coumarines.....	29
Figure 13 : structure de base de l'isoprène.....	23
Figure 14 : structure de quelques monoterpènes.....	25
Figure15 : structure de caoutchouc.....	27
Figure 16 : le stress oxydant.....	28
Figure 17 : voie métabolique de l'O ₂ et des espèces réactives d'oxygène (ERO).....	29
Figure 18 : origine des radicaux libres.....	30

Figure 19 : formation des différentes espèces oxygénées activées (EOA).....	32
Figure 20 : différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.....	33
Figure 21 : réaction de vitamine C avec les réactifs oxygènes species ORS.....	34
Figure 22 : réaction de flavonoïde avec ORS.....	35
Figure 23 : structure de caroténoïde.....	35
Figure 24 : lieu de la récolte de l' <i>Euphorbia characias L.</i>	38
Figure 25 : protocole d'étude expérimental.....	41
Figure 26 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	45
Figure 27 : droite d'étalonnage d'acide gallique.....	50
Figure 28 : droite d'étalonnage de la quercétine.....	51
Figure 29 : courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait (tige et feuille) d' <i>Euphorbia characias L.</i>	53
Figure 30 : courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide gallique.....	54
Figure 31 : pouvoir réducteur des extraits et de l'acide gallique testés à différentes concentrations.....	56

Liste des tableaux

Tableau 01 : estimation des surfaces d'échanges d' <i>Euphorbia characias L.</i>	9
Tableau 02 : quelques classes distinctes des flavonoïdes.....	16
Tableau 03 : classification des alcaloïdes.....	21
Tableau 04 : quelques exemples des différents types des terpenoïdes.....	24
Tableau 05 : résultats des tests phytochimiques de l'extrait des tiges et des feuilles de l' <i>Euphorbia characias L.</i>	48
Tableau 06 : la teneur en polyphénols totaux des deux extraits tiges et feuilles.....	51
Tableau 07 : la teneur en flavonoïdes des deux extraits tiges et feuilles.....	52
Tableau 08 : pourcentage d'inhibition de l'extrait de l' <i>Euphorbia characias L.</i> et acide gallique.....	54
Tableau 09 : étude de l'activité antalgique de l'extrait aqueux d' <i>Euphorbia characias L.</i> à l'acide acétique.....	58

Introduction :

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est employé à exploiter la nature pour ses besoins médicaux et alimentaires, et au cours du développement des anciennes civilisations l'exploitation des plantes à usage médicinale (Rhattas et al., 2015).

Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments. Environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes : digitaline, quinine, morphine, colchicine, artémisinine... Pourtant, moins de la moitié des plantes aujourd'hui ont été étudiées pour leurs propriétés thérapeutiques (Chaabi, 2008). Euphorbiacées grande famille que l'on trouve dans toutes les parties assez chaudes du monde. Généralement arbustes ou herbes (Polunin et Huxley, 1965), les plantes du groupe des euphorbes possédant des propriétés médicinales et toxiques fort actives (Éloy, 1888).

La famille des Euphorbiaceae est principalement représentée par des plantes du genre *Euphorbia* et *Mercurialis*. Le genre *Euphorbia* rassemble 33 taxa, dont 22 (66 %) ont des aires de distribution euro-méditerranéennes et 5 (15 %) sont des espèces naturalisées.

Plusieurs de ces espèces n'ont pas été étudiées tant sur le plan phytochimique que biologique et constituent donc un groupe taxonomique particulièrement intéressant pour entreprendre de telles études.

Le présent manuscrit, s'articule autour de deux parties.

- La première consiste en une revue bibliographique dans laquelle sont détaillés les chapitres suivants : *Euphorbiaceae* L., les métabolites secondaires et le stress oxydatif.
- La deuxième partie est une étude expérimentale, elle-même est présentée sous deux volets :
 - Le premier comporte une description brève de la méthode d'extraction de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles d'*Euphorbiaceae* L.
 - Le deuxième dans lequel sont présentés les tests suivants :

Criblage phytochimique, dosage des polyphénols et des flavonoïdes, L'évaluation de l'activité antioxydant par le radical DPPH, test du pouvoir réducteur, et le test de l'activité antalgique de notre extrait.

Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus lesquels pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des plantes médicinales.

1. Généralités :

Le genre des Euphorbes est un des plus nombreux de la grande famille des végétaux, il est répandu dans les quatre parties du monde. Ces plantes sont aussi connues sous le nom de tithymales, huit espèces distinctes, savoir : *Euphorbia esula*, *E. helios copia*, *E. peplus*, *E. exigua*, *E. dulcis*, *E. cyparissias*, *E. palustris*, et *E. characias* (**Sédillot, 1811**),

Les Euphorbiaceae renferment diverses familles de composés chimiques tels que les alcaloïdes (**Denazare et al., 2005**), les flavonoïdes, l'acide ellagique (**Mavar et al., 2004**), les saponines (**Tripathi et Tiwari, 1980**) et les terpènes (**Mazoir et al., 2008**). Un latex laiteux est caractéristique de la famille des Euphorbiacées, et semble d'avoir un rôle clé dans les mécanismes de défense des plantes en repoussant et en tuant les phytopathogènes, et sceller les zones blessées. Compte tenu de l'attention centrée sur le latex de la plante, jusqu'à présent, très peu d'attention a été versée à d'autres parties de la plante (**Pintus et al., 2010**).

Dans l'*Euphorbia characias* L., le latex renferme des protéines agissant comme enzymes antioxydantes et qui peuvent interagir avec d'autres substances du latex pour assurer certains types de protection des végétaux contre l'invasion des agents pathogènes et / ou contre les stress environnementaux (**Pintus et al., 2013**).

2. Position systématique

Règne : plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Rosidea

Ordre : Euphorbiales

Famille : Euphorbiaceae

Sub famille : Euphorbioideae

Tribu : Euphorbieae

Subtribu : Euphorbiinae

Genre : *Euphorbia*

Espèce : *Euphorbia characias* L.

(Bouziane, 2012; Benot, 2015).

Nom Commun : *Euphorbe characias* L.

Nom Vernaculaire : Anaghou (Rhattas et al., 2015).

3. Description botanique :

Le genre *Euphorbia* est le plus répandu de la famille des euphorbiacées et comprend 2000 espèces caractérisées par la production d'un latex laiteux (Jassbi, 2002).

Euphorbia characias L. est une plante vivace très répandue en zone méditerranéenne en lieux sec (Cécile, 1992), appelée aussi « euphorbe des garriges », cette grande euphorbe des endroits rocailloux ou des bois clairs à chêne vert peuvent dépasser 1m, grande inflorescence allongée, brunes très foncées (Maslong et Delarozière, 2007). L'inflorescence très particulière nommé cyathium. Le cyathium est une inflorescence constituée d'une fleur femelle entourée de quelques fleurs mâles réduites à une étamine qui est portée par un pédicelle articulé. La fleur femelle est formée d'un gynécée à 3 carpelles, porté sur un pédicelle s'allongeant à maturité.

Ce groupe de fleurs, ayant l'aspect d'une fleur hermaphrodite, est entouré par un involucre simulant un calice aux sépales soudés, possédant 4 à 5 dents au sommet, entre les quelles s'intercalent des glandes de formes variées.

L'inflorescence générale est une cyme simulant une ombelle dont les rameaux se divisent plusieurs fois de manière dichotomique et se terminant par les cyathiums ; chaque point de ramification étant pourvu de bractées (**Poluninet, 1965**).

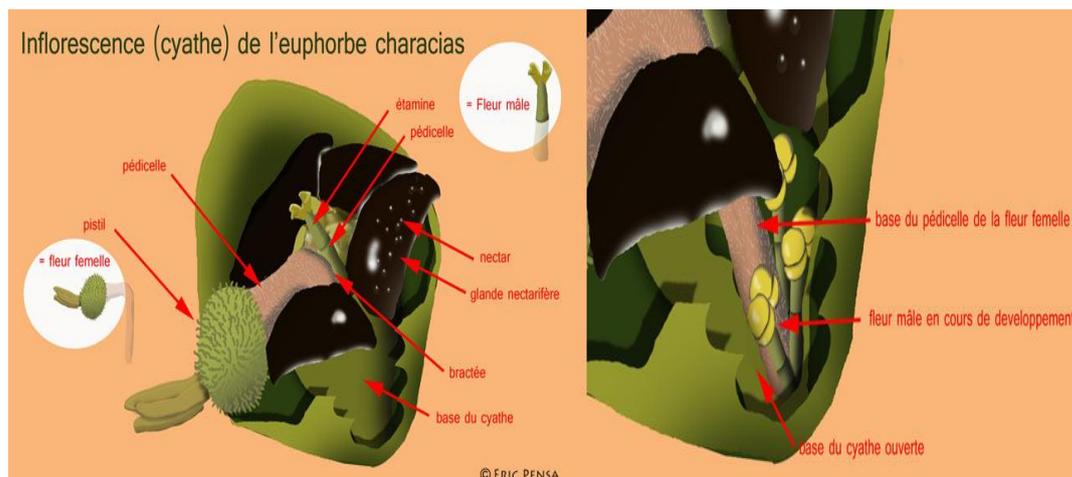


Figure 1 : Inflorescence d'*Euphorbia characias* L. (<http://www.plantegrassefrontignan.fr>)

- **Tiges :**

Tiges robustes, velues, partant d'une basse ligneuse et ne sont pas ramifiées (**Poluninet, 1965**).



Figure 2 : Tige d'*Euphorbia characias* L. (<http://www.animateur-nature.com>)

- **Feuilles :**

Feuilles coriaces, longuement lancéolées, rétrécies à la base, en couronne dans la partie supérieure des tiges, l'inflorescence terminale en forme de balai, constituées de verticilles de nombreux rayons 10 à 20, chacun porte une paire de cyathes et des bractées vert-bleu arrondies, soudées (**Poluninet, 1965**).

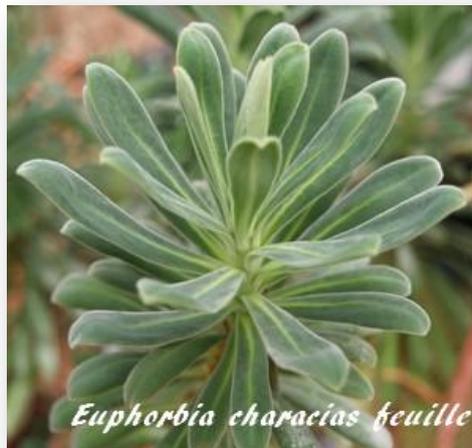


Figure 3 : Feuille d'*Euphorbia characias* L. (<http://www.animateur-nature.com>)

- **Fleurs :**

Les fleurs terminales sont entourées par les bractées cupuliformes, fleurs avec des glandes en croissant obtuses au sommet, ses fleurs sont des couleurs vert jaunâtre, fruit couvert de nombreux poils soyeux, une capsule de 5-6mm (**Poluninet, 1965**).



Figure 4 : Fleurs d'*Euphorbia characias* L. (<http://www.animateur-nature.com>)

4. Répartition géographique

Elle est répartie dans les régions suivantes : Espagne, Portugal, Baléares, Italie, Sicile, Crète et Maroc (www.tela-botanica.org).



Figure 5 : *Euphorbia characias* L. (Pintus et al., 2015).

5. Les conditions de culture:

Les *Euphorbes characias* L. tolèrent des conditions de culture très diverses. Ils seront plus vigoureux en situation bien lumineuse. Ces euphorbes sont très rustiques, et survivent sans problème à des températures négatives de l'ordre de -15°C , leur

principal ennemi est l'humidité stagnante d'hiver qui risque de les faire pourrir ou dépérir. Ils prospèrent dans n'importe quel type de sol pas trop calcaire, même caillouteux, pauvre ou sec, pourvu qu'il soit bien drainé (Thibault, 2014).



Figure 6 : Type de sol de culture de l'*Euphorbia characias* L.
(www.velocio.fr).

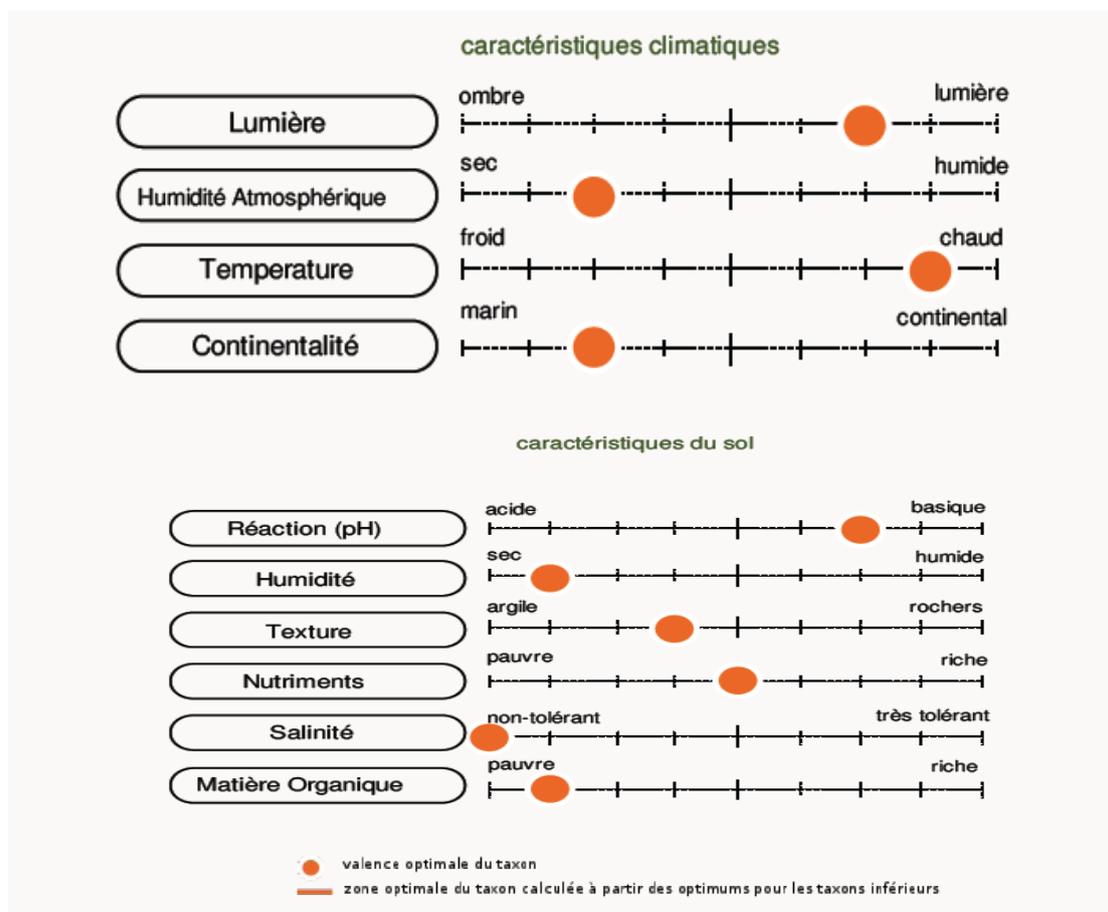


Figure 7 : Les conditions de la culture de l’*Euphorbia characias* L. (www.tela-botanica.org).

Plante : <i>Euphorbe Characias</i> L.	
Masse (kg)	0,009
Surface des parties chlorophylliennes (m2)	0,0134
Surface des parties chlorophylliennes/ Masse (m2 / kg)	1,49
Estimation de la surface foliaire d'absorption des gaz (m2)	0,401
Estimation de la surface foliaire d'absorption des gaz / Masse (m2 / kg)	44,6
Estimation de la surface d'absorption de l'eau et des sels minéraux (m2)	1,74

Estimation de la surface d'absorption de l'eau et des sels minéraux / Masse (m ² / kg)	193	Tabl eau
---	-----	-------------

1 : Estimation des surfaces d'échanges d'*Euphorbia characias*

L. (http://eduscol.education.fr/ressources_SVT_TS)

6. Utilisations médicinales :

Dans la médecine traditionnelle, les Euphorbiaceae sont utilisées dans de nombreuses régions du monde dans le traitement de plusieurs affections telles que les maladies gastro-intestinales (Bouziane, 2012).

Les espèces de cette famille, possèdent des propriétés cicatrisantes, antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires, Elles sont également utilisées dans le traitement du paludisme, des rhumatismes, des inflammations et dans le traitement de la syphilis (Bouziane, 2012). *Euphorbia characias* L. plante : purgatif, vomitif, vésicant, goutte, hydropisie, phtisie (<http://www.robinarma.com>).

7. Utilisations traditionnelles des *Euphorbia*

Des études ethnopharmacologiques récentes rapportent que l'usage des *Euphorbia* est toujours bien présent dans les traditions des îles de la mer tyrrhénienne. En Sardaigne et Sicile, le latex d'*Euphorbia characias* L. était utilisé pour le braconnage des truites et des anguilles (Louis, 2015).

8. Toxicité du latex d'*Euphorbia* :

La connaissance de la très grande toxicité oculaire du latex d'euphorbe est connue depuis l'antiquité.

Les conséquences de l'exposition au latex d'*Euphorbia* sont encore, aujourd'hui, une cause d'accident courante, notamment lors des travaux horticoles. Des articles récents décrivent des cas de dermatites causées par le latex d'*Euphorbia*. Les effets disparaissent généralement spontanément après quelques jours (**Louis, 2015**).

Un grand nombre d'espèces d'Euphorbiaceae, sont toxiques pour l'homme; urticantes, irritantes des muqueuses, inductrices de tumeurs et engendrent des allergies cutanées causées généralement par leurs composés lactoniques ou quinoniques (**Bouziane, 2012**).

Euphorbia characias L. c'est une plante toxique sécrètent un latex très toxique en raison de l'euphorbone qu'il contient. Ce liquide blanc apparait à la cassure des tiges et provoque des irritations de la peau. Il peut s'avérer dangereux en cas de contact avec les yeux (**Pujuguet, 2008**), Après une latence courte (1 à 2h), on observe une violente inflammation de la bouche avec vomissements et ptyalisme, puis des diarrhées souvent hémorragiques, des coliques douloureuses s'accompagnant d'hypothermie, de tremblements et de vertiges ainsi que d'une hématurie et de dyspnée (**Jean et al., 2005**).

Les métabolites secondaires

1. Définition

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Hartmann, 2007).

2. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003 ; Haven *etal.* 2000).

3. Les composés phénoliques

3.1. Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert *etal.* 2005).

3.2. Structure chimique

Les polyphénols caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutants qui les relie (Manallah, 2012).

3.3 Biosynthèse des polyphénols

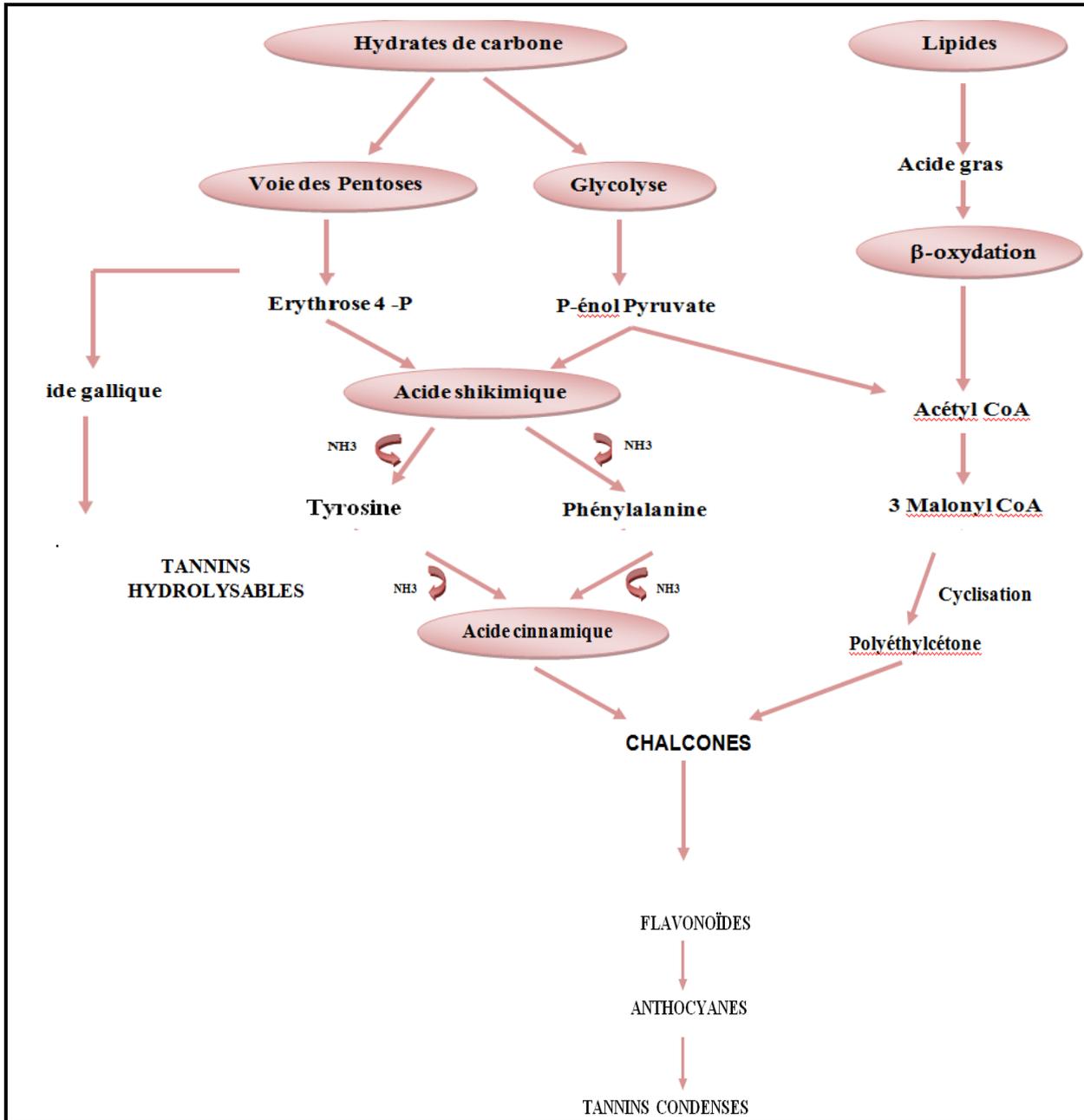


Figure 8: Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011).

3.4. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs divers propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (Middleton *et al*, 2000 ; Ksouri *et al*, 2007).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).

3.5. Classification des polyphénols

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (Glombitza, 1985 ; Harborne, 1980 ; Porter, 1989; Boros, 2010).

3.5.1. Les acides phénoliques

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Et présents chez toutes les céréales.

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques. Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer oesophagien chez les rats (Laraoui, 2007).

3.5.2. Les flavonoïdes

3.5.2.1. Définition

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006).

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton, 1993**).

Ils se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Delporte et al., 1999**).

3.5.2.2. Structure des flavonoïdes

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C₆, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C₆-C₃-C₆). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure 9) (**Bruneton, 1999**).

La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).

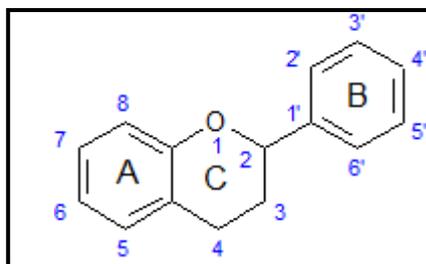
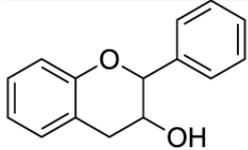
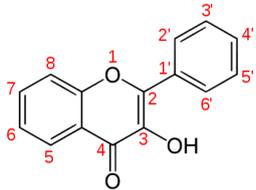
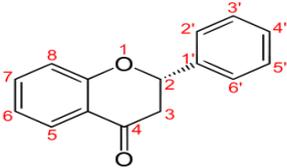
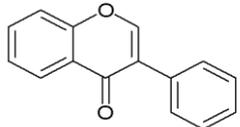


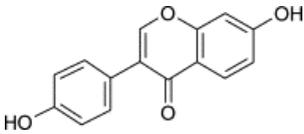
Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (**Dacosta, 2003**).

3.5.2.3. Classification des flavonoïdes

Tableau 2 : quelques classes distinctes des flavonoïdes (Bellebcir, 2008).

www.agrobio-rennes.com

Classes	Formules	sources	propriétés
flavanols		raisins, Thé, cacao	-Antioxydants naturels -anticancéreuses
flavonols		Oignon, pomme, brocoli, fruits rouges	- antihistaminique, anti-inflammatoire et antioxydante. - antihistaminique, anti-inflammatoire et antioxydante. - Isorhamnétine : propriétés antioxydante.
flavanones		Les Agrumes : orange, citron, pampleousse, mandarine, orange amère	- neutralisation des radicaux libr.es. - amélioration de l'absorption de la vitamine C. - la prévention des cancers de la peau.
Isoflavones		Soja	- phytoestrogéniques. - Source de phytoestrogènes.

anthocyanes		Myrtille, mûre, raisin noir, aubergine, prune...	<ul style="list-style-type: none"> - la lutte contre le vieillissement cellulaire en améliorant l'élasticité et la densité de la peau. - Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes. - antiseptiques urinaires.
-------------	---	--	---

3.5.3. Les lignanes

3.5.3.1. Définition

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Ils sont les dimères des unités de phenylpropane (C6 C4) (**Benarous, 2009**).

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

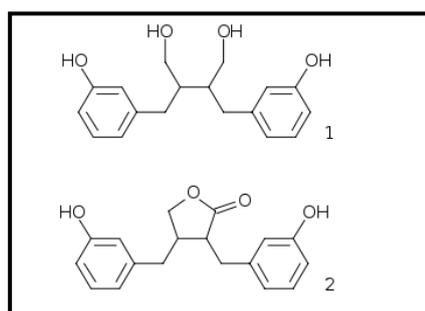


Figure 10 : Structure des lignanes (**Midoun, 2011**).

3.5.4. Les stilbènes

3.5.4.1. Définition

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les

flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule.

Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

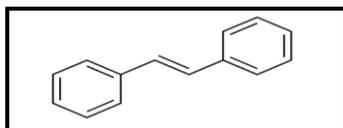


Figure 11 : Structure d'un stilbène (Midoun, 2011).

3.5.5. Les coumarines

3.5.5.1. Définition

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorota* Wild., Fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1922 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.*, 2001).

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée, cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Hofmann, 2003).

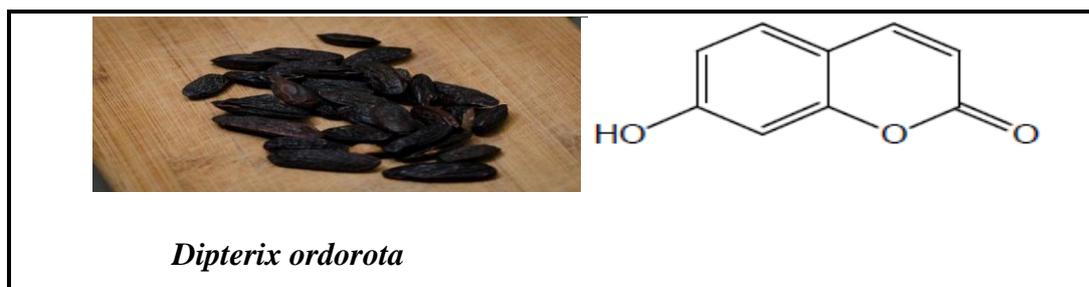


Figure 12 : Squelette de base des coumarines (Djemoui, 2012).

3.5.6. Les tannins

3.5.6.1. Définition

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (Bruneton, 1999). Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau.

D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da, ils sont caractérisés de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité (Brunet, 2008).

3.5.6.2. Classification

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes :

- **Les tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Mueller-Harvey, 2001). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol : Les tannins galliques et Les tannins éllagiques. (Hagerman, 2002).

- **Les tannins condensés**

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992 ; Bruneton, 1999).

Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine).

liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Feucht et Treutter, 1997; Schofield et al., 2001).

4. Les alcaloïdes

4.1. Définition

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème}. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga; 2011**).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Mauro, 2006**).

Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage (**Rakotonanahary ; 2012**).

4.2. Propriétés des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologiques.

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

4.3. Structure des alcaloïdes

On divise les alcaloïdes en trois genres :

4.3.1. Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils

sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga ; 2011**).

4.3.2. Les pseudo-alcaloïdes

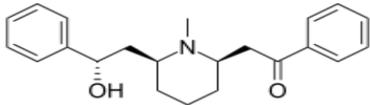
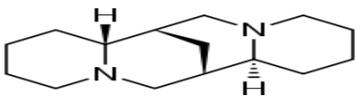
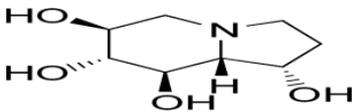
Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga ; 2011**).

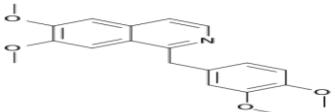
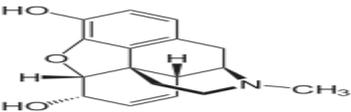
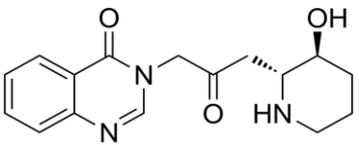
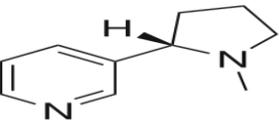
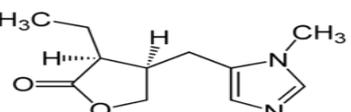
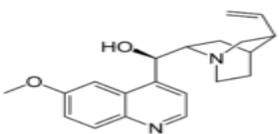
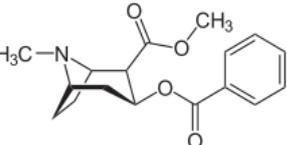
4.3.3. Les proto-alcaloïdes

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

4.4. Classification des alcaloïdes

Tableau 3 : Classification des alcaloïdes (**Mauro, 2006 ; Wilhelm, 1998**).

Les dérivés des alcaloïdes	Exemple	Les propriétés
Alcaloïdes dérivés de la lysine	<p>Composés piperidinique ex : la lobéline</p>  <p>Composés quinolizidines ex : la spartéine</p>  <p>Composés indolizidinique ex : la castanospermine</p> 	<p>- L'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite.</p> <p>-Très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant de rythme cardiaque.</p> <p>- utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement.</p>
Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine	<p>Composés monocyclique ex : l'éphédrine</p> 	<p>-Médicament analgésique et anti-allergique.</p> <p>-Une activité vasodilatatrice</p> <p>Propriétés hypnotiques et analgésique.</p>

	<p>Les isoquinoléines ex : la papavérine</p>  <p>Les benzyltétrahydroisoquinoléines ex : la morphine</p> 	<p>-A un effet calmant sur des zones du système nerveux central.</p> <p>-Inhibe la sensation de douleur.</p> <p>-Effet analgésique associé a un effet euphorisant.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique</p>	<p>La fébrifugine</p> 	<p>-Propriétés antipyrétiques et antiparasitaires.</p> <p>-Une activité antitumorale sur différents modèles de tumeurs humaines du poumon du colon et des ovaires.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique</p>	<p>La nicotine</p> 	<p>-Effet contre les attaques des herbivores et des insectes</p> <p>Stimulant respiratoire.</p> <p>-Agent aidant le processus de sevrage tabagique.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'histidine</p>	<p>La pilocarpine</p> 	<p>-Utilisée en ophtalmologie dans le traitement du glaucome.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés du tryptophane</p>	<p>La quinine</p> 	<p>-Utilisée dans les traitements de la crampe nocturne de la jambe.</p> <p>-Tue les mérozoïtes de l'agent vecteur de la malaria.</p>
<p>Alcaloïdes dérivés de l'ornithine</p>	<p>La cocaïne</p> 	<p>-Utilisée dans le domaine de l'odontologie.</p> <p>- Elle étouffe les symptômes de fatigue et d'épuisement</p>

5. Les terpenoïdes

5.1. Définition

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « *Pistacia Terebinthus* » (**Ayad, 2008**).

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (**Benaïssa, 2011**).

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (**Malecky, 2005**).

5.2. Structure des terpenoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique, soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et ne peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 .

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (**Malecky, 2005**.**Benaïssa, 2011**).

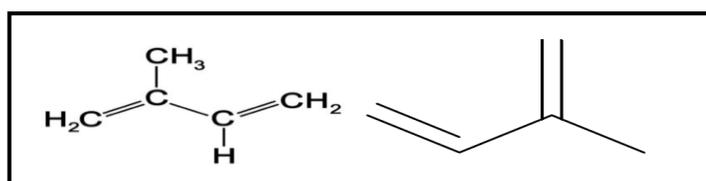


Figure 13 : Structure de base de l'isoprène (**Khenaka, 2011**).

5.3. Classification des terpenoïdes

Tableau 4 : Quelques exemples des différents types de terpenoïdes (Belbache, 2003).

N	Squelette carboné	Type de terpenoïdes	Exemple de molécule
1	C5	Hemiterpene	Isoprène
2	C10	Monoterpène	Nérol, citronnelle, huiles essentielles
3	C15	Sesquiterpène	β -Cadinène
4	C20	Diterpène	Sclaréol, phytol
6	C30	Triterpène	Lanostérol
8	C40	Tetraterpène	Caroténoïdes
> 8	>40	Polyterpène	Caoutchouc

5.3.1. Hémiterpènes

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée ; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpènes, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Malecky, 2005).

5.3.2. Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes) (Ayad, 2008).

Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène, selon le mode de couplage «tête-queue» (Ayad, 2008).

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acycliques), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques) et tricyclique (Malecky, 2005 ; Belbache, 2003).

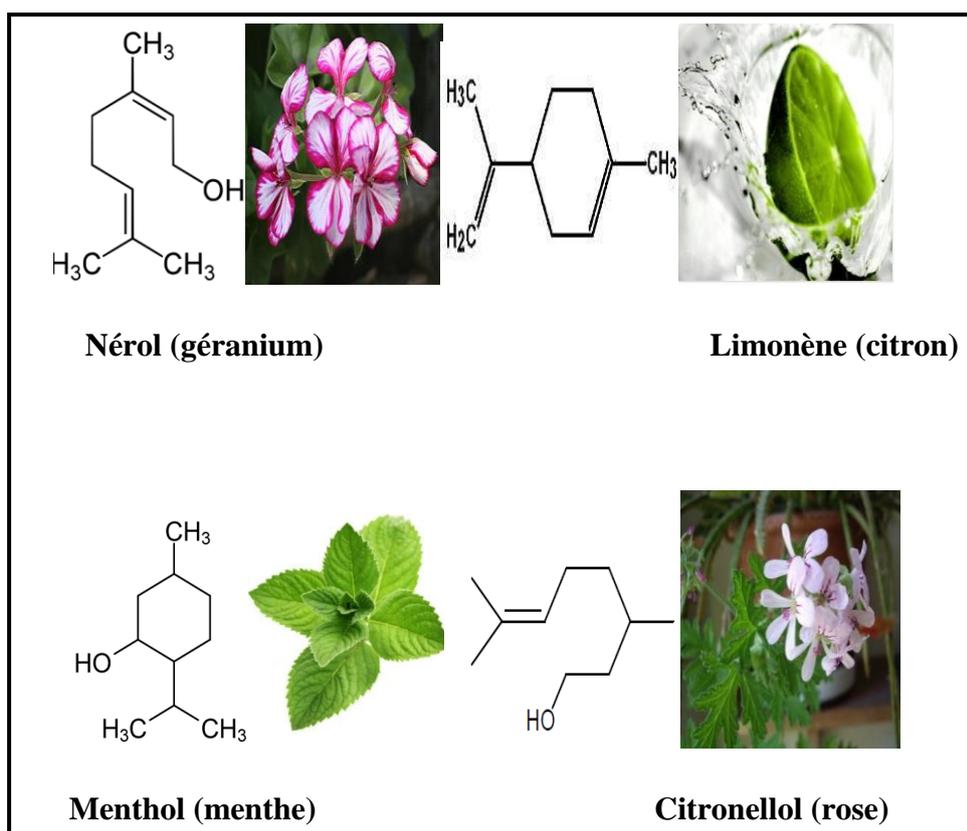


Figure 14 : Structure de quelques monoterpènes (Ayad, 2008 ; Belbache, 2003).

5.3.3. Sesquiterpène

Les sesquiterpènes forment une série de composés qui renferment 15 atomes de carbones, ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le β -Cadinène (Belbache, 2003), ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme : les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature. Les sesquiterpènes et les monoterpènes sont souvent en mélange dans les huiles essentielles des plantes. On peut également rencontrer dans les plantes des sesquiterpènes lactones (Ayad, 2008).

Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique (Belbache, 2003; Malecky, 2005).

5.3.4. Diterpènes

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C₂₀) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène, ils se forment à partir de leur précurseur, le géranyl-géranyl- pyrophosphate (GGPP) (Malecky, 2005).

Sont très répandus chez les végétaux supérieurs, ils sont aussi présents chez certains insectes et chez divers organismes marins. On peut les trouver encore dans les résines, les exsudats, les gommés naturelles et les gibbérellines (Ayad, 2008).

Ils peuvent être acycliques comme le phytol ; dont il est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E, cependant après divers réarrangements, ils peuvent être monocycliques comme la vitamine A, bicycliques comme le sclaréoloutricycliques comme l'acide abiétique (Belbache, 2003; Malecky, 2005).

5.3.5. Triterpènes

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. Ils ont comme précurseur le squalène, il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare (Malecky, 2005).

La plupart des triterpènes sont à l'état libre sous forme estérifiée ou hétérosidique, on les trouve notamment dans les résines (Mouffok, 2011).

5.3.6. Tétraterpènes

Les Tétraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles (Ayad, 2008). Les tétraterpènes les mieux connus sont les caroténoïdes. Ces derniers représentent un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge (Ayad, 2008).

5.3.7. Polyterpènes

En général, les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène (plus de C40). Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans. Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien (Malecky, 2005).

Charles Marie a créé le mot français caoutchouc à partir de l'expression indienne «cao-tchu », qui signifie « bois qui pleure » qui est un produit naturel qui s'écoule de l'écorce d'un arbre (*Hévéa Brasiliensis*). Il se présente sous la forme d'un liquide d'apparence laiteuse, appelé latex (Pire, 2011).

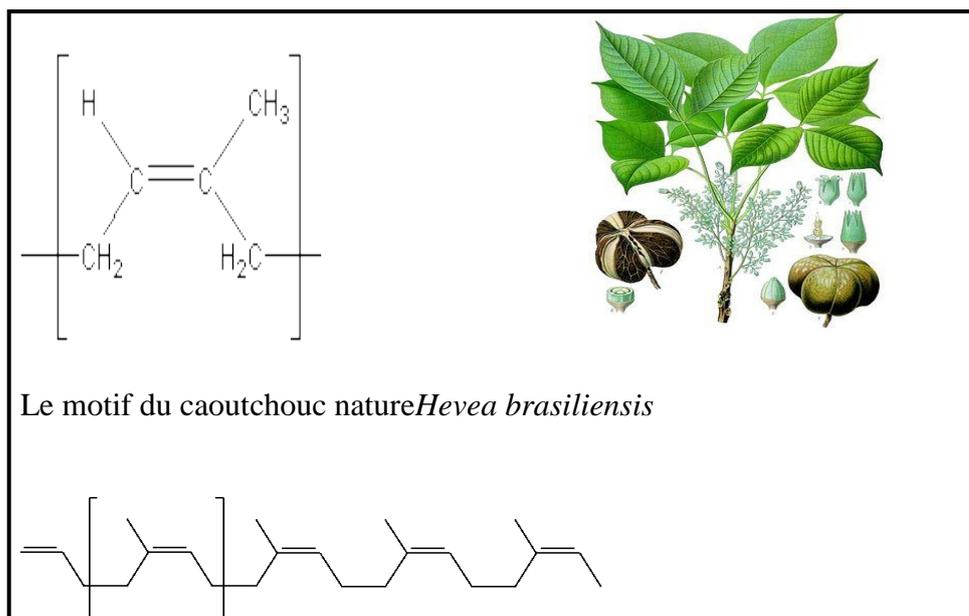


Figure 15: Structure de caoutchouc (Pire, 2011).

Le stress oxydant

1. Définition :

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (Halmi, 2015).

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes donc c'est un déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydant (Aliouat et Boulkelia, 2012).

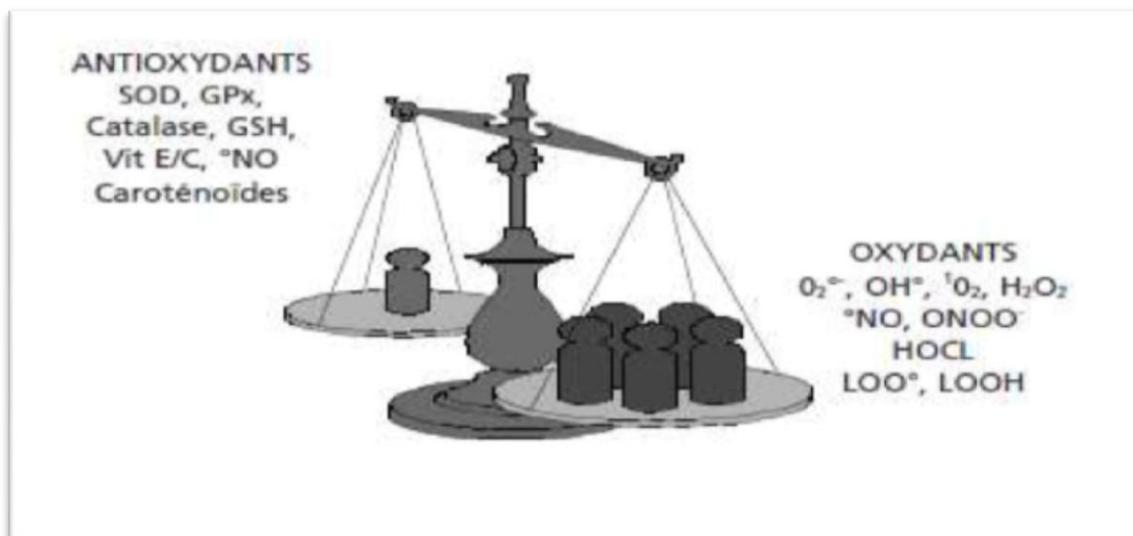


Figure 16 : Le stress oxydant ((Nasri et Hadje Brahim, 2014). .

2. Les radicaux libres :

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron, il peut arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en cédant un électron (agissant alors comme un réducteur) (Djadouri et Ben Dahra, 2014).

Dans un radical libre, le nombre d'électrons sur la dernière orbital est impair, il se créera alors des liaisons entre atomes car les radicaux libres tenteront d'aller rechercher un électron pour former une nouvelle molécule, l'ensemble des radicaux libre et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

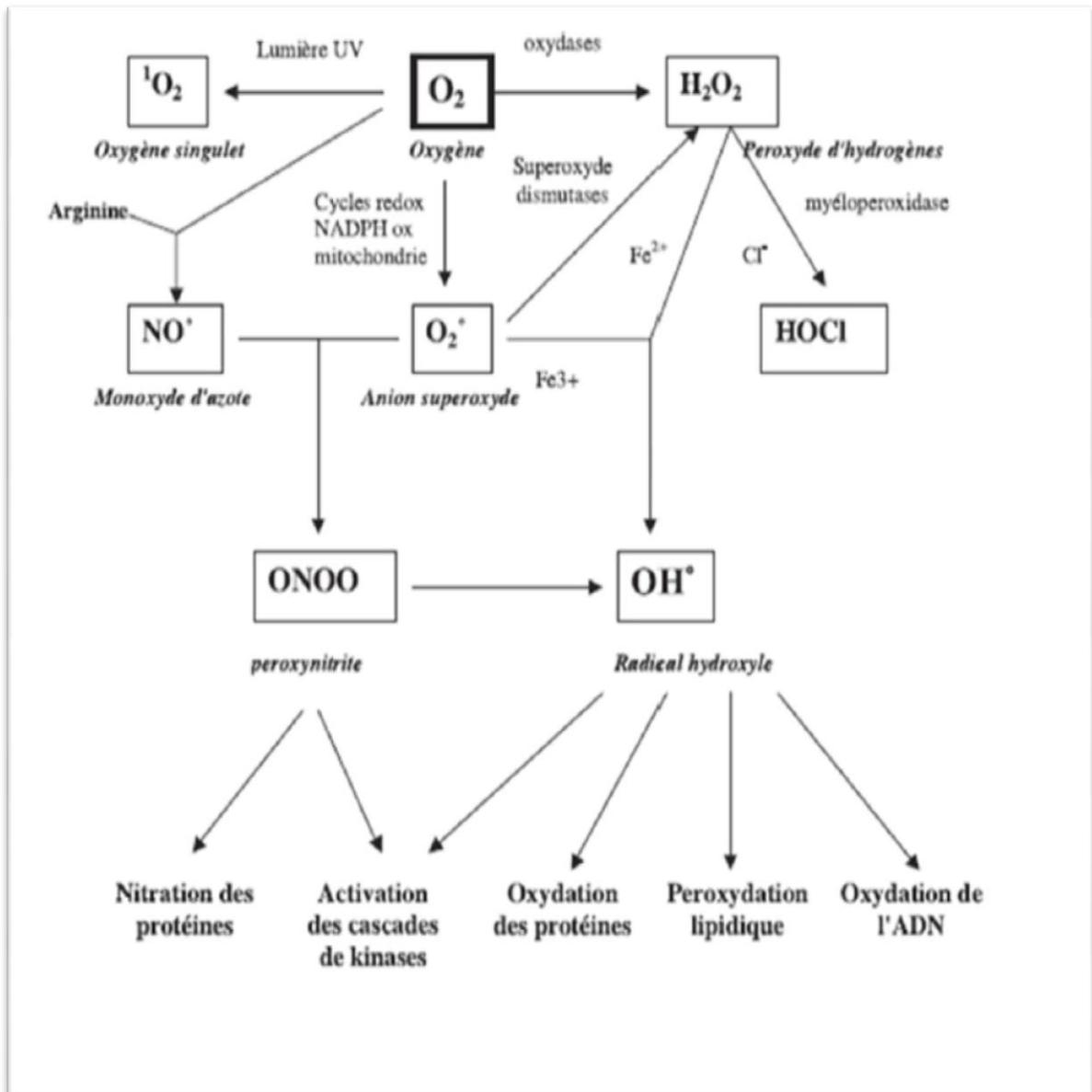


Figure 17 : Voie métabolique de l'O₂ et des espèces réactives d'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

3. Origine des radicaux libres :

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de deux sources exogènes et endogènes:

3.1. Sources exogènes :

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (Haïoun et Hamoudi, 2015).

3.2 Sources endogènes :

Les enzymes pro-oxydantes, incluant la NADPH-oxydase, la NO-synthase ou la chaîne du cytochrome P450 peuvent générer des RLO, lors du transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies, une réduction incomplète de l' O_2 peut apparaître pour 1 à 2% de l'oxygène moléculaire conduisant à la formation de RLO, surtout l'anion O_2^{\bullet} (Chaabi, 2008) figure 18.

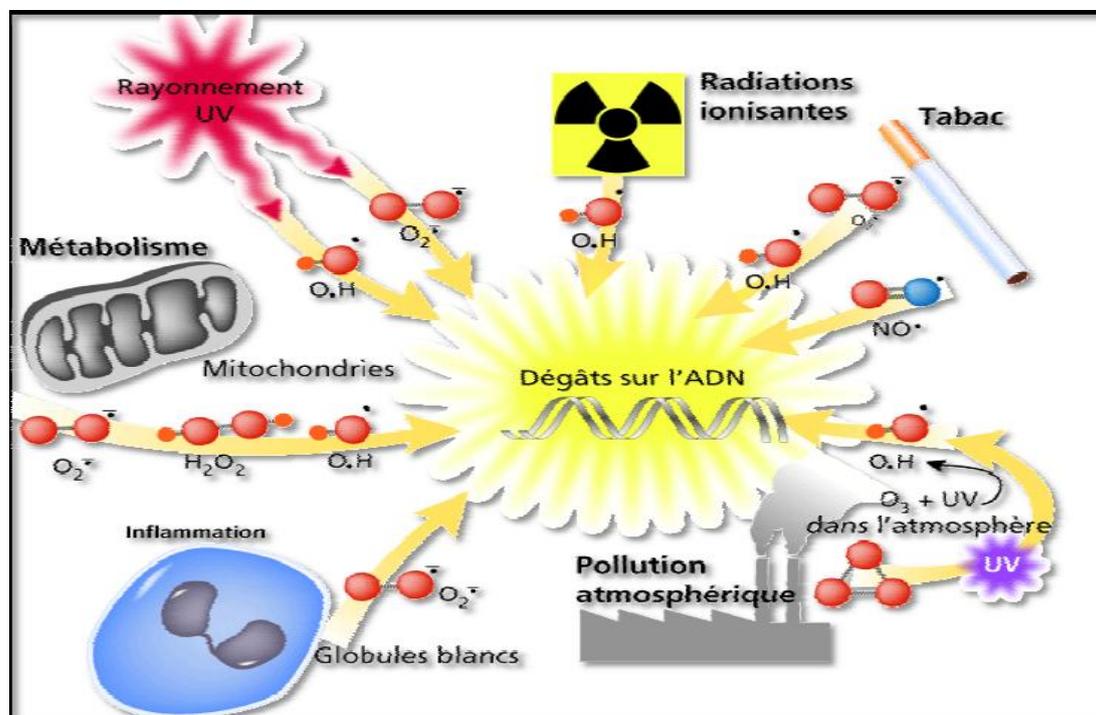


Figure 18 : Origine des radicaux libres (<https://www.la-famille-des-radicaux-libres.html>).

4. Les principaux types des espèces réactives d'oxygène (ERO) :

4.1. L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$:

C'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres espèces réactives d'oxygène, formé par la réduction mono électrique de l'oxygène (addition d'un seul électron) (Haioun et Hamoudi, 2015).

Il n'est donc pas toxique par lui-même, sa toxicité indirecte peut s'expliquer par la formation :

-de radical hydroxyle OH^{\bullet} .

-de peroxyde d'azote $ONOO^{\bullet}$.

-et surtout le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 par dissimulation enzymatique (Moussard, 2006).

4.2. Radical hydroxyle OH^{\bullet} :

Le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) est le radical libre le plus réactif et peut être formé à partir de l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le cuivre ou le fer (Chaabi, 2008).

4.3. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Ce radical provient d'une réaction entre deux anions superoxyde qui met fin au processus radicalaires, il s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant (Halmi, 2006).

4.4. Monoxyde d'azote NO^{\bullet} :

Le monoxyde d'azote radicalaire (NO^{\bullet}) est un composé important, il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...). Toutefois, le NO^{\bullet} peut former avec l'anion super oxyde le peroxyde d'azote ($HOONO$), un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Haleng, 2007) figure 19.

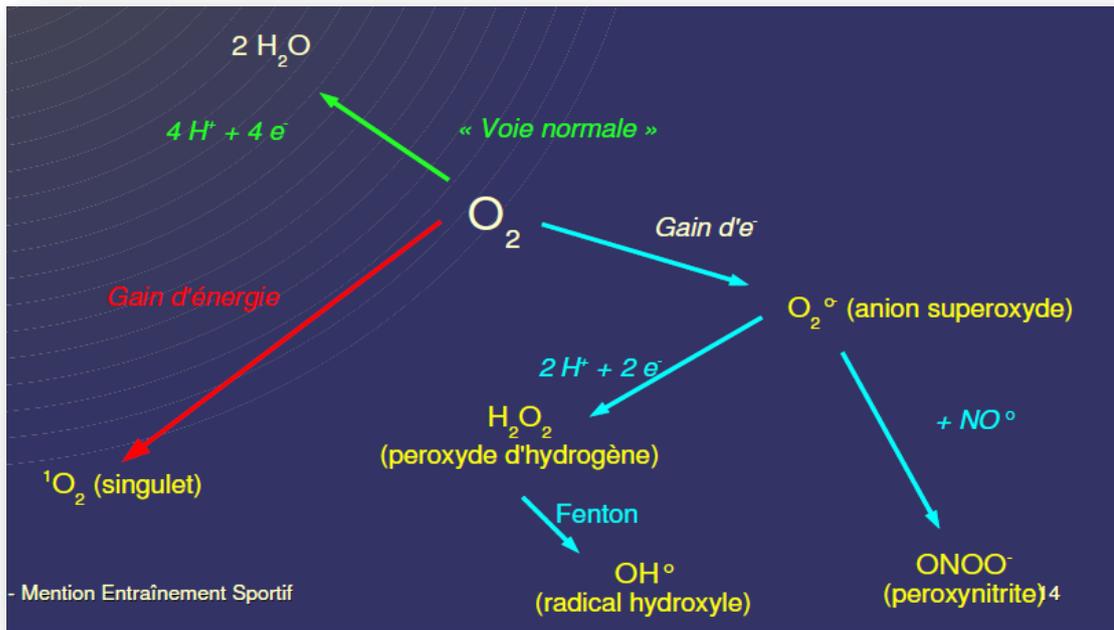


Figure 19 : Formation des différentes espèces oxygénées activées (EOA).

5. Les antioxydants :

La production excessive ou incontrôlée des espèces oxydant induit une perturbation du statut redox pouvant induire de sérieuses altération des structures cellulaires, il est donc absolument nécessaire que cette production de ROS soit contrôlée, pour cela, les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classées en antioxydants enzymatique ou non enzymatique (figure 20).

Les composés antioxydants sont définis comme toutes substances qui présentent à faible concentration par apport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990).

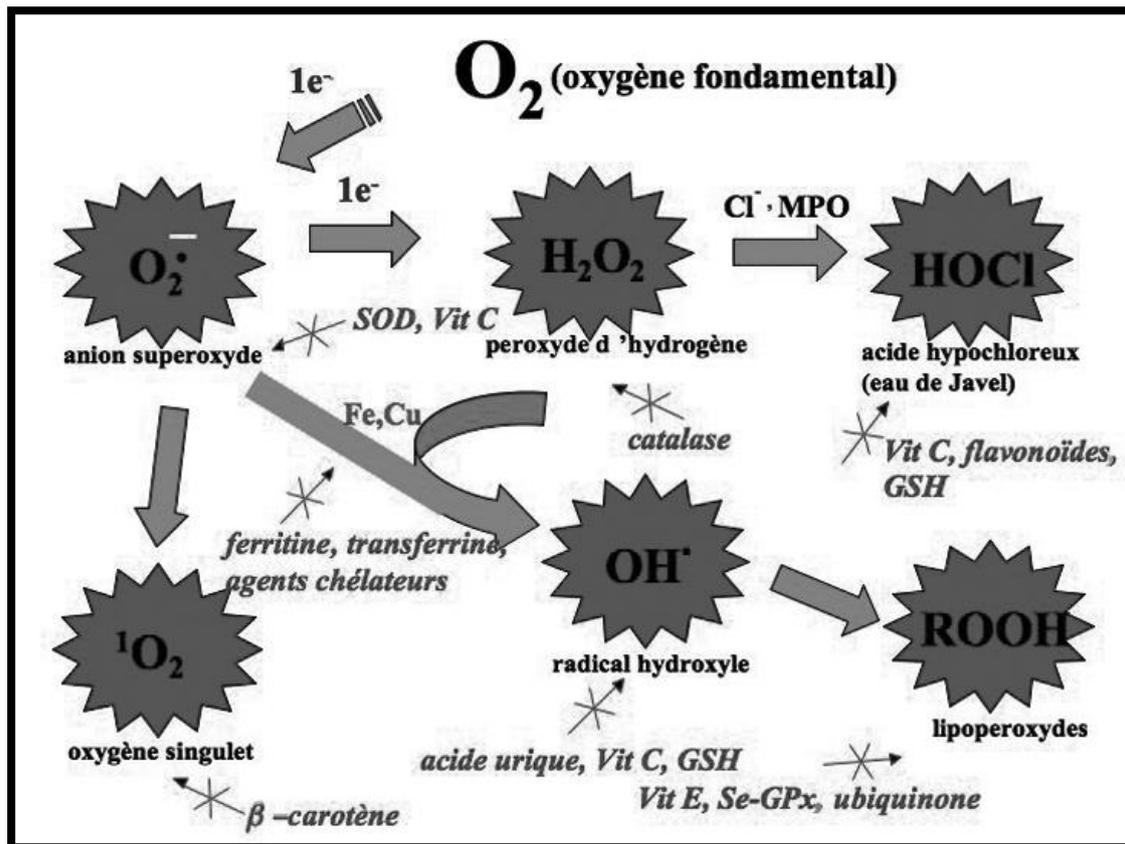


Figure 20 : Différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng, 2007).

5.1. Les antioxydants non enzymatiques :

5.1.1. Vitamine C :

La vitamine C ou l'acide ascorbique est un antioxydant majeur présent dans tous les organes, elle est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra et extracellulaire, la vitamine C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme OH^{\cdot} et $O_2^{\cdot-}$ (figure21), la vitamine C régénère la vitamine E à l'interface membrane/cytosol (Nasri et Hadje Brahim, 2014).

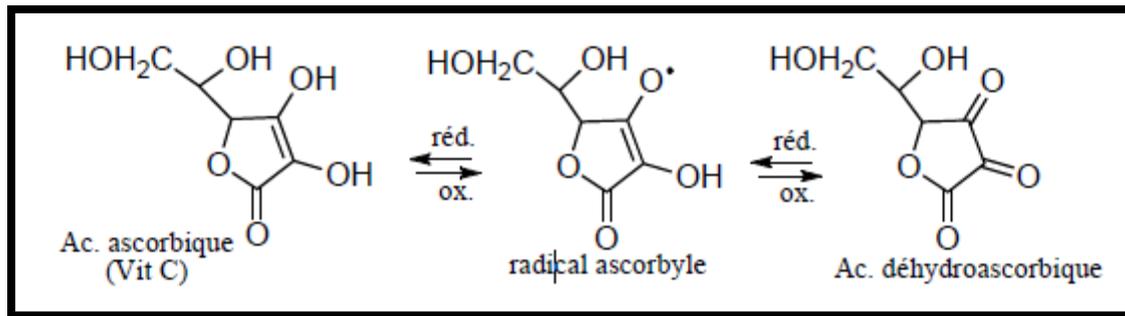


Figure 21 : Réaction de vitamine C avec les réactifs oxygènes species ORS (Vercautere, 2012).

5.1.2. Vitamine E :

la vitamine E est un ensemble d'isomères, les tocophérols (α , β , γ , δ). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng, 2007).

5.1.3. Glutathion :

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire, il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Libbey, 2007).

5.1.4. Les polyphénols :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires et des antioxydants, présents dans les fruits, légumes et le thé.....etc (Moussard, 2006).

L'activité antioxydante des polyphénols est généralement attribuée à leur structure hautement conjuguée à laquelle s'ajoutent les groupements hydroxyles ce qui induit la présence d'atomes d'hydrogène labiles, Ils sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles $\text{OH}\cdot$ et superoxyde $\text{O}_2\cdot\text{R}$ (Klibet, 2016).

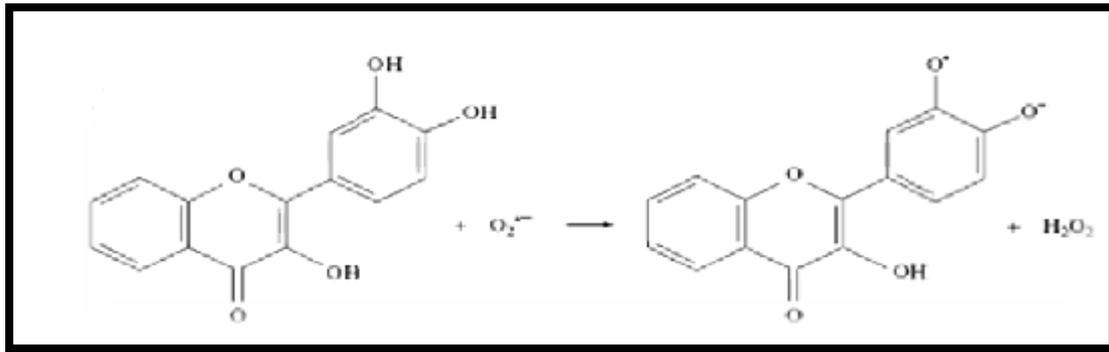


Figure 22 : La réaction de flavonoïde avec ORS (Deghdak., 2014).

5.1.5. Les caroténoïdes :

Leur nom dérive du carotène qui isolé pour la première fois de la racine de la carotte, on trouve les caroténoïdes soit sous forme d'hydrocarbures, soit à l'état de dérivés hydroxylée ou dérivés cétoniques (canthaxantine).

Les carotènes sont synthétisés par dimérisation de deux molécules de pyrophosphate de géranyl-géranyl-pp (Merghem, 2009).

Leur activité antioxydante est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $O_2^{\bullet-}$, ROO^{\bullet} , HO^{\bullet} , par simple addition électrophile et transfert d'électron (Valko et al, 2006).

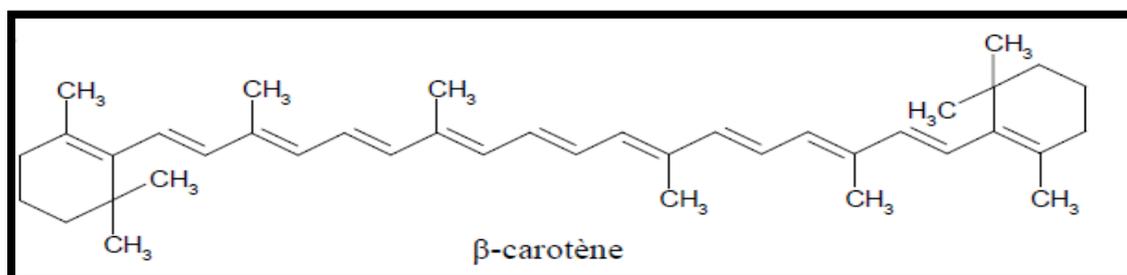
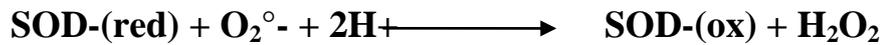


Figure 23 : La structure de caroténoïde (Belbache, 2003).

5.2. Les antioxydants enzymatiques :

5.2.1. Syperoxyde dismutase (SOD) :

La syperoxyde distumase (SOD) constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres de l'oxygène, découvert par Mecord et Fridovih en 1969, elle catalyse la dismutation de l'anion super oxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (Libbey, 2007).



5.2.2. Catalase :

Les catalases sont des enzymes qui permettent de transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau : sont localisées à l'intérieure de peroxysome exclusivement, ce qui limite leur action par rapport à d'autre enzyme, cytoplasmique (Libbey, 2007).



5.2.3. Glutathion peroxydase (GPx):

Glutathion peroxydase (GPx) sont des enzymes tétramérique à sélénium cytoplasmique et mitochondrial, qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant la capacité réductrices du couple glutathion /glutathion disulfite (GSH/GSSG) (Libbey, 2007).

Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, ce dernier étant essentiel pour l'activité de cette enzyme (Haleng, 2007 ; Nasri et Hadje Brahim, 2014).



6. Méthode de dosage de l'activité antioxydant :

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydrox phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et super oxydes ($\text{O}_2\cdot$).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de différent radicaux, comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Paramètre) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ; ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre $\text{DPPH}\cdot$ (diphenyl-picrylhydrazyle) (<http://www.revue-genie-industriel.info>).

Les résultats des activités antioxydantes sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant une grande propriété antioxydante (**Halmi, 2015**).

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

1. Matériel :

1.1. Matériel végétal :

Les tiges et les feuilles d'*Euphorbia characias* L. ont été cueillies à la wilaya de Khenchela (Algérie) région d'Alhama, la récolte a été réalisée à la fin du mois de septembre 2016.



Figure 24 : lieu de la récolte de *Euphorbia characias* L. (Berkal et Bouchama, 2016).

1.2. Animaux et les conditions d'hébergement et alimentation :

L'activité antalgique de l'extrait méthanolique a été réalisée sur 20 rats *Wistar* albinos, femelles, adultes en bonne santé, pesant entre 100 et 136g, issus de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

Les rats ont été gardés dans des cages individuelles dans un environnement standardisé, avec une température ambiante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et un cycle de 12 h de lumière-obscurité. L'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum*.

Les animaux ont été acclimatés aux conditions de laboratoire pour une période de **7 jours** avant le début de test.

Toutes les procédures expérimentales ont été adoptées en conformité avec les directives internationales de protection d'animaux.

1.3. Réactifs chimiques:

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits :

Acide sulfurique (H_2SO_4), acide chlorhydrique (HCl), Folin-Ciocalteu, acide acétique, acide gallique, acide ascorbique, quercétine, ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{Cn})_6$), trichloracétique (TCA), chlorure ferrique (FeCl_3), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), méthanol, éther de pétrole, anhydride acétique, paracétamol, trichlorure d'aluminium (AlCl_3), NaOH, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 .

1.4. Appareils utilisés :

Spectrophotomètre UV-visible, rotavapor, bain marie, balance, vortex, agitateur magnétique, étuve, micropipette.

2. Méthodes :

Les tiges et les feuilles de l'*Euphorbia characias L.* ont été séchées à l'ombre, découpées en petits morceaux, puis broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre moins fine pour la préparation de l'extrait hydro-alcoolique.

2.1. Préparation des extraits végétaux

2.1.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole

Après le broyage des tiges de la plante, nous avons ajoutés un volume de l'éther de pétrole à **116g** de tige, après une macération de 24 heures à température ambiante. Le mélange est filtré.

La même méthode avec les feuilles mais nous avons utilisé 250g de matière végétale. L'extrait de l'éther de pétrole évaporé à l'aide de rota-vapeur dans une température de 40C° et de nombre de tour 300 tour/min, l'extrait récupéré sous forme d'une pate dans une boîte de pétri.

Cette étape utilisée pour éliminer la chlorophylle pendant la préparation de l'extrait hydro-alcoolique.

2.1.2. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique :

La matière végétale (tiges et feuilles) a été mise à macérer dans le système solvant suivant : 7 volumes de méthanol + 3 volumes de l'eau distillée. Après une macération de 24 heures à température ambiante. Le mélange est filtré. L'opération est répétée trois fois avec renouvellement de système solvant toute les 24 heures. Les trois fractions filtrées sont regroupées et évaporées à l'aide de rota-vapeur dans une température de 40C° et de nombre de tour 300tuor/min.

L'extrait hydro-alcoolique récupéré sous forme d'une pate dans 3 boîtes de pétri.

Les différentes étapes du protocole d'étude expérimentale sont résumées dans la figure 25.

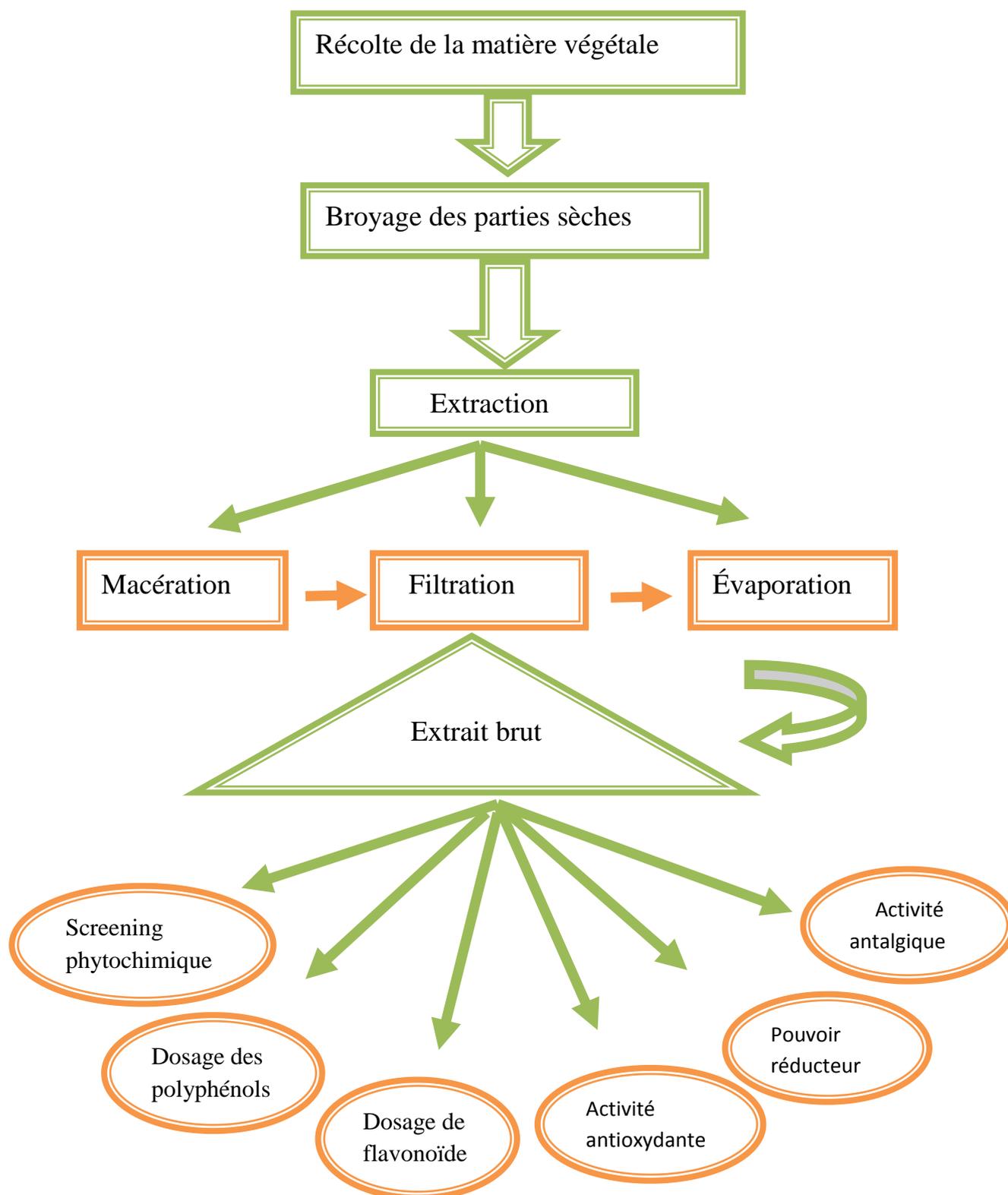


Figure 25 : Protocol d'étude expérimentale

2.2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et / ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires : alcaloïdes, quinones, flavonoïdes, saponines, tanins, stérols et sucres réducteurs dans les différents organes de la plante tiges et feuilles.

2.2.1. Quinones libres

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

2.2.2. Alcaloïdes

Test fondé sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds

Test de Mayer :

L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50 %.

La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes (**Dohou et al., 2003**).

2.2.3. Tanins

1,5 g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %.

Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes secs.

L'ajout de FeCl₃ à 1 % permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Dohou et al., 2003**).

2.2.4. Tanins vrais

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée, ajouter quelques gouttes d' HCl concentré le tout est chauffé au bain marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif (**Yves-Alain et al., 2007**).

2.2.5. Saponines

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse, dans des conditions déterminées, l'extrait repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines (Yves-Alain et al, 2007).

2.2.6. Stérois et polyterpènes

Ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive (koffi et al., 2009).

2.2.7. Flavonoïdes (Cyanidine)

L'extrait méthanolique dissout dans 1ml HCl et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (Najaa et al., 2011).

2.2.8. Sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de Fehling. 5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves-Alain et al., 2007).

2.3. Dosage colorimétrique (spectrophotométrique)

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Mahmoudi et al, 2013). Le réactif, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, le dosage consiste à prendre un volume de 200 μ l de l'extrait avec 1ml de Folin- Ciocalteu, après 4min, 800 μ l de carbonate de sodium (7,5%) ajouté à la solution, puis le volume est ajusté à 3ml avec l'eau distillée, les tubes sont placés à l'obscurité pendant 2 heures à une température de 37°C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 760nm .

Les concentrations des polyphénols de l'échantillon sont déterminées à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-1 µg/ml) (Clémentine *et al.*, 2012).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), le dosage consiste à prendre un volume de 1ml d'extrait méthanolique avec 1ml d'AlCl₃ (2%), après incubation pendant 10mn à l'obscurité à 37°C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 430nm.

Les concentrations des flavonoïdes de l'échantillon sont déterminées à partir une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-1 µg/ml) (Mahmoudi *et al.*, 2013).

2.4. Evaluation de l'activité biologique in-vitro

2.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre

diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH) :

Le composé chimique 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques, Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire, La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydante se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue (Cristina *et al.*, 2009).

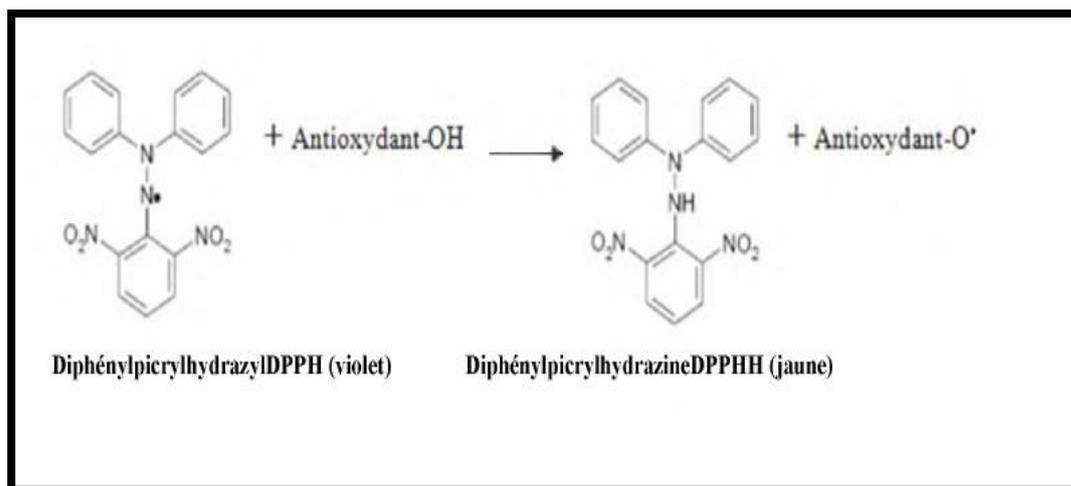


Figure 26 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Lounis et khalfalah, 2015).

Les concentrations des échantillons et de l'acide ascorbique dans le milieu réactionnel sont comprises de 0 à 1mg/ml.

Un volume de 1ml de l'extrait à des concentrations différentes avec un volume de 1ml de DPPH sont incubés dans l'obscurité pendant **30min**.

L'absorbance de chaque tube a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde **517nm** (Cristina et al., 2009).

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{d'extrait}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

La valeur IC₅₀ (inhibition concentration 50) présente la concentration d'inhibition nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres.

2.4.2. Pouvoir réducteur :

La méthode est basée sur la réaction de réduction de Fe³⁺ présente dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe²⁺, Un millilitre de l'extrait à différentes

concentrations (0 à 0.5 mg/ml) est mélangé avec 2ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2ml d'acide trichloracétique TCA à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10min. Un aliquote (2ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de Chlorure ferrique ($FeCl_3,6H_2O$) à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

2.5. Evaluation de l'activité biologique *in vivo* :

2.5.1. Test de l'activité antalgique (test de torsion)

Protocole expérimental :

Les expériences ont été réalisées sur un modèle de douleur induit par l'acide acétique chez les rats, l'injection intra péritonéale d'acide acétique à 1% chez les rats provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristique avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventral.

Les rats utilisés dans ces essais ont été mis à jeun pendant 15h et répartis en 4 lots de 3 rats chacun :

Lot témoin : traité par l'eau distillée (1ml/kg) de poids corporal.

Lot1: traité par solution aqueuse de l'extrait à la dose de 250mg/kg.

Lot2 : traité par solution aqueuse de l'extrait à la dose de 500mg/kg.

Lot 3 : traité par solution aqueuse de l'extrait à la dose de 750mg/kg.

Lot 4 (référence) : traité par paracétamol à la dose de 100mg/kg.

L'injection de 0,5ml de l'extrait, 30min après, nous avons injecté 0,5ml de l'acide acétique à 1% par voie IP, 5min après l'injection, le nombre de contorsions a été compté pour chaque rat pendant 20min (**Chatter et al ., 2011**).

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la douleur est obtenu à partir de la formule suivante :

$$\text{PI}\% = (\text{NC}_{\text{témoin}} - \text{NC}_{\text{traité}} / \text{NC}_{\text{témoin}}) * 100$$

NC : nombres de contorsion.

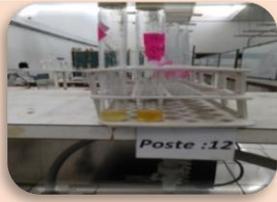
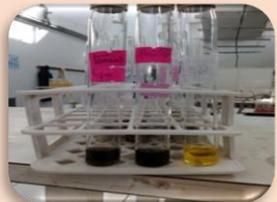
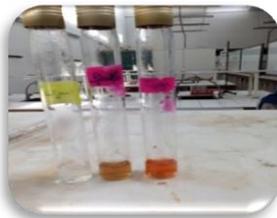
Ce chapitre présente tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs discussions.

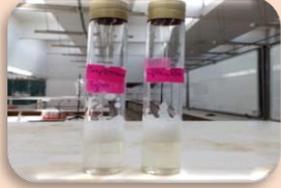
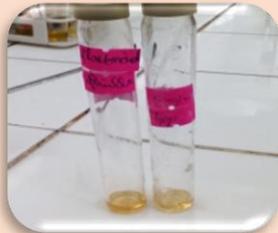
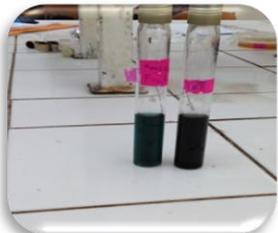
1. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des feuilles et des tiges de l'*Euphorbiacharacias L.*, la détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique.

Les résultats sont présentés dans tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Résultats de criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de l'*Euphorbiacharacias L.*

Métabolites secondaires	Tiges	Feuilles	Résultats
Quinones	-	-	
Alcaloïdes	++	++	
Tanins (catéchique)	+++	+++	
Tanins vrais	+++	+	

Saponines	+++	+++	
Stérols et polyterpènes	-	-	
Flavonoïdes	+	++	
Sucres réducteurs	++	-	

Les résultats sont interprétés comme suit :

(+) présence.

(++) présence moyenne.

(+++) présence fort.

(-) absence.

L'étude de criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de *Euphorbiacharacias L.* montre que cette plante contient : les tanins (vrais, catéchique), les alcaloïdes, les saponisides et les flavonoïdes dans les deux parties (tiges et feuilles).

La teneur en flavonoïdes est plus grande dans les feuilles que dans les tiges, par contre, la teneur des tanins vrais plus grande dans les tiges que les feuilles.

Pour les sucres réducteurs sont présents seulement dans les tiges.

Les quinones, stérols et polyterpènes sont absents dans les deux parties de plante (feuilles et tiges).

La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles.

2. =Dosage des polyphénols totaux :

Dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de l'*Euphorbiacharacias L.* a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les concentrations de l'extrait d'acide gallique ont été variées entre 0 à 1mg/ml permet de tracer la courbe d'étalonnage, des mesures de l'absorbance de l'extrait à longueur d'onde 760nm.

La quantité des polyphénols totaux déterminée par l'équation $y=ax +b$.

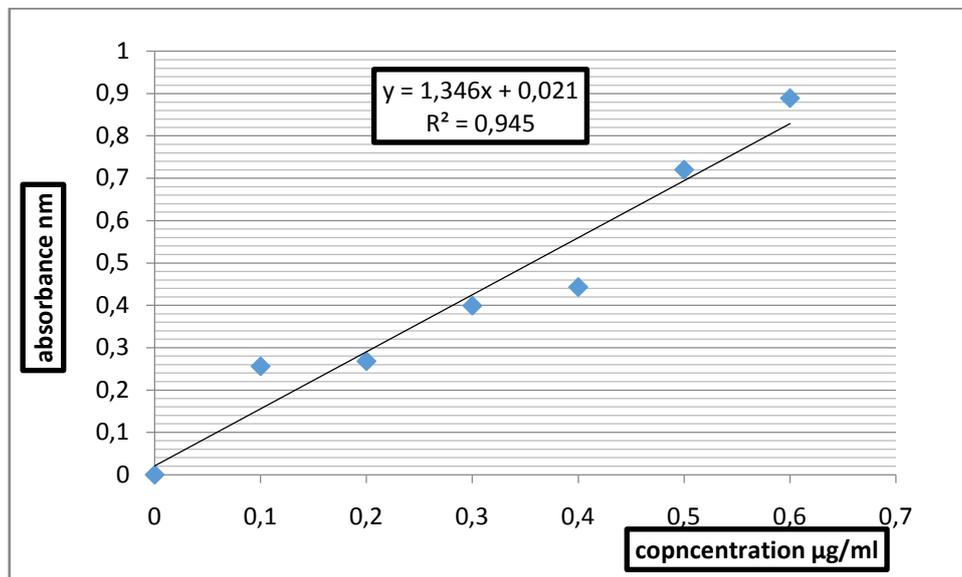


Figure 27 : Droite d'étalonnage d'acide gallique

Les calculs :

La mesure de l'absorbance d'extrait méthanolique a été effectuée à une longueur d'onde 760nm, les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Teneur des polyphénols totaux d'extrait méthanolique des tiges et des feuilles.

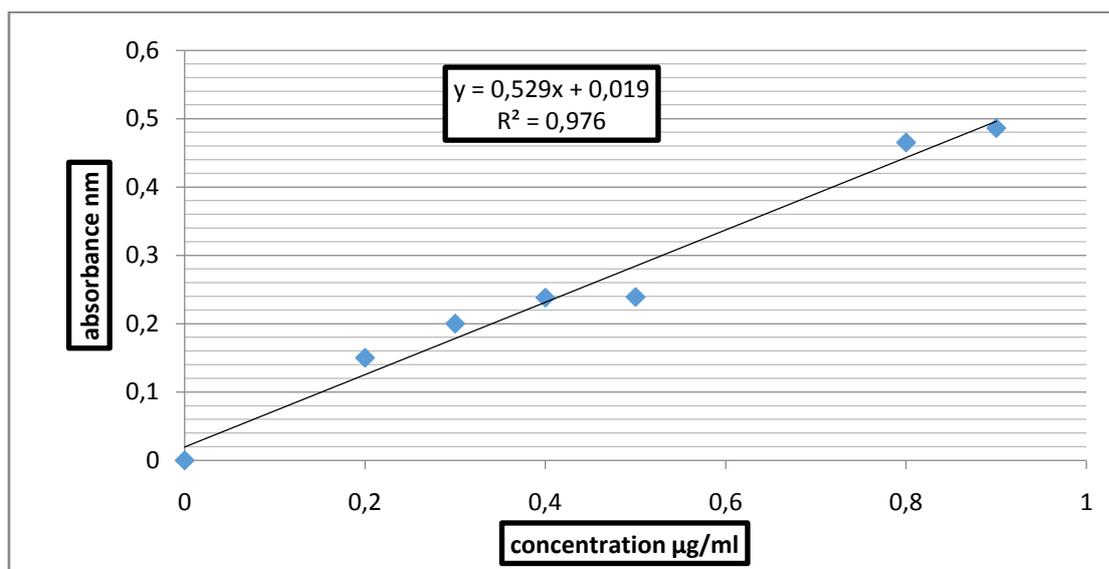
L'extrait	Tiges	Feuilles
La concentration mg EAG/mgd'extrait	7,02	3,24

Les teneurs en polyphénols totaux (tableau 6) montrent que l'extrait méthanolique des tiges de *Euphorbiacharacias L.* représente la teneur la plus élevée de l'ordre de 7,02mgEAG /mg (mg équivalent acide gallique par mg d'extrait), tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait méthanolique des feuilles de *Euphorbiacharacias L.* de l'ordre de 3,24mgEAG /mg.

Nous avons remarqué que la partie tige renferme plus de composés phénoliques que les feuilles.

3. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique, la quercétine considérée comme contrôle positif, qui a permis de réaliser la courbe d'étalonnage, et de la calcul de la teneur de flavonoïde dans notre extrait.

**Figure 28** : Droite d'étalonnage de la quercétine

L'absorbance d'extrait méthanolique a été effectuée à longueur d'onde 430nm, les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Tableau 7: Teneur en flavonoïdes des deux extraits tiges et feuilles.

L'extrait	Tiges	Feuilles
La concentrationg EQ/mg d'extrait	340,26	461,24

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (Tableau 7) révèlent que l'extrait méthanolique des feuilles est le plus riche en flavonoïdes 461,24g EQ/mg. L'extrait méthanolique des tiges de l'*Euphorbiacharacias L* contient une bonne quantité, mais relativement faible par rapport à celle des feuilles, la teneur est de l'ordre de 340,26gEQ /mg. Nous avons remarqué que la partie feuilles renferme plus de composés phénoliques que les tiges.

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga, 2001).

Les résultats obtenus par l'étude phytochimique nous a donné une bonne prévision concernant l'activité biologique de la plante, bien qu'elle soit générale et imprécise, elle reste encourageante surtout que ces composés phytochimiques dont on a prouvé la présence sont connus par leurs effets pharmacologiques et d'être impliqués dans de nombreuses activités biologiques.

4. Activité antioxydante d'extrait *in vitro* :

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm, à partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant.

Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer la courbe qui représente les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique, la détermination graphique de IC50 se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*Euphorbiacharacias L.*

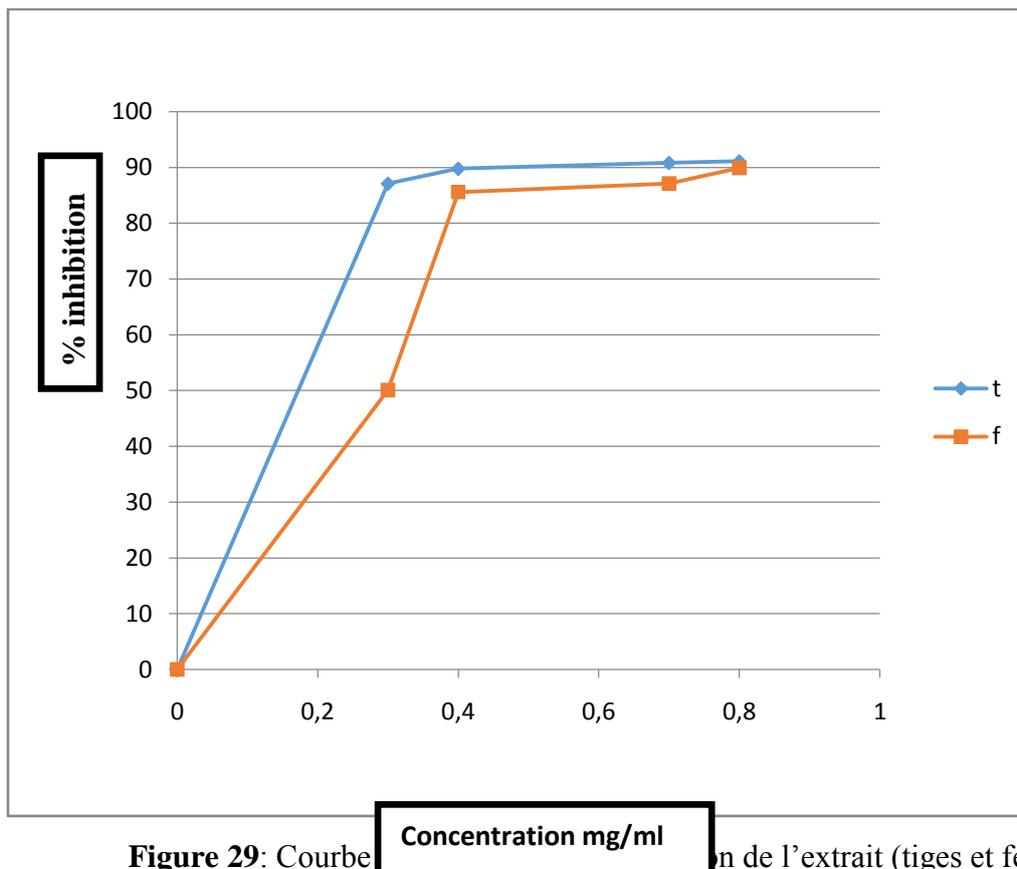


Figure 29: Courbe de concentration (mg/ml) de l'extrait (tiges et feuille) d'*Euphorbiacharacias L.*

- T : tiges
- F : feuilles

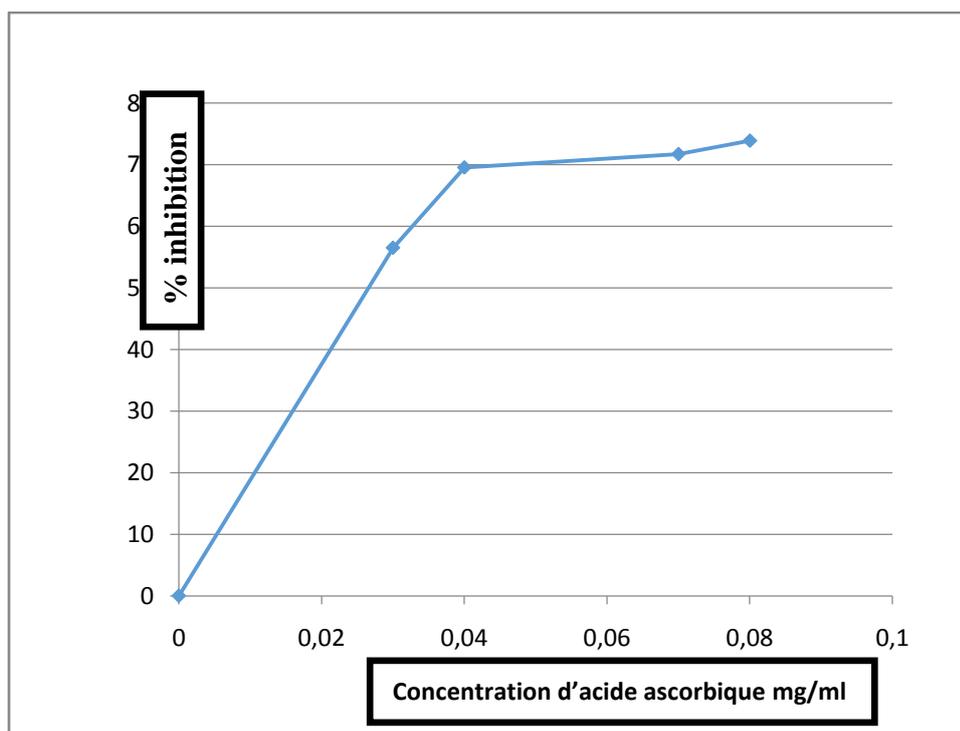


Figure 30: Courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique.

Tableau 8 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait de l'*Euphorbiacharacias L.* et acide ascorbique.

L'extrait	tiges	feuilles	Acide ascorbique
IC50 mg/ml	0,219	0,324	0,0388

L'activité anti-radicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Euphorbiacharacias L.* a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique du DPPH, les résultats seront comparés avec le standard qui est l'acide ascorbique.

Selon les résultats enregistrés dans le tableau au-dessus.

L'extrait méthanolique des tiges de *Euphorbiacharacias L.* est doté d'une activité antioxydante importante, leur IC50 est 0,219mg/ml, mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,0388mg/ml.

L'extrait méthanolique des feuilles de l'*Euphorbiacharacias*L. est aussi doté d'une activité antioxydante importante, leur IC50 est 0,324mg/ml, mais elle est faible que la valeur d'acide ascorbique qui est de l'ordre de 0,0388mg/ml.

Aussi, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des tiges est doté d'une activité inhibitrice plus forte que celle de l'extrait méthanolique des feuilles de notre plante.

La différence dans l'activité inhibitrice des deux extraits méthanoliques des tiges et des feuilles de notre plante, est peut être due à la différence de la teneur en antioxydants (les polyphénols et les flavonoïdes) des deux parties.

Les résultats montrent que la quantité des antioxydants dans les tiges est plus importante que celle présente dans les feuilles.

Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH (Cristina *et al.*, 2009).

5. Pouvoir de réduction :

Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance (Wang H. *et al.*, 2008). Les résultats du pouvoir réducteur de nos extraits présentent un profil comparable à celui des teneurs en substances actives.

La figure 31, montre que l'extrait méthanolique de l'*Euphorbiacharacias* L. exerce une activité réductrice, mais inférieure à celle du standard (l'acide ascorbique).

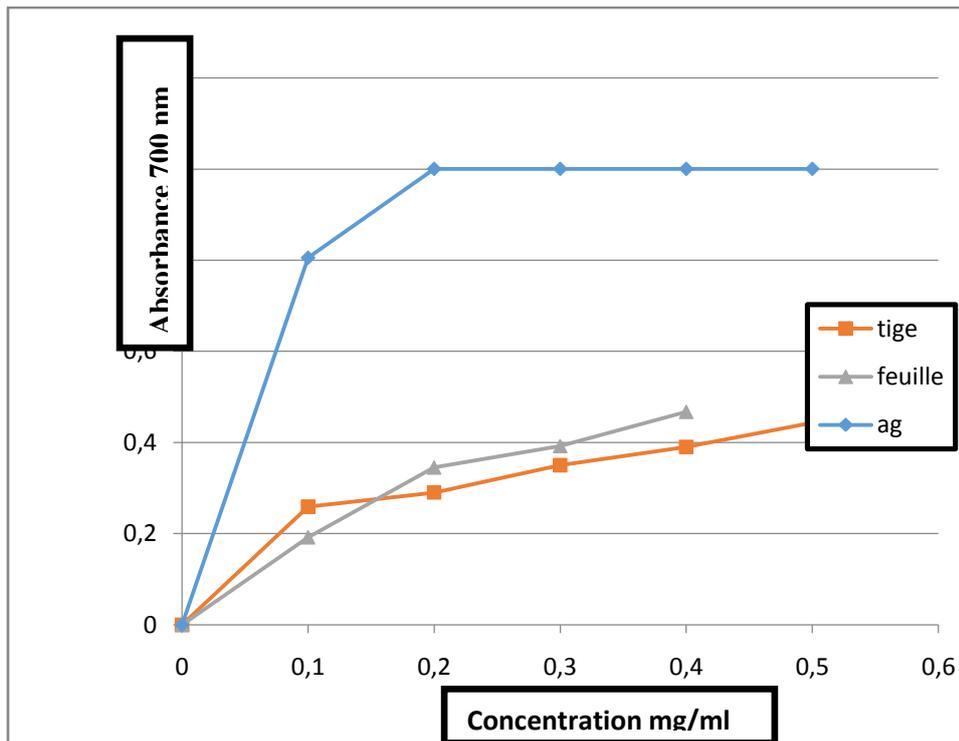


Figure 31: Pouvoir réducteur des extraits et de l'acide ascorbique testés à différentes concentrations

Ce test est basé principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} , cette réaction se manifeste par l'apparition de la couleur bleue mesurable à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'extrait possède un grand pouvoir réducteur.

A partir de nos résultats (figure 31), l'augmentation de la réduction de fer est proportionnelle aux concentrations utilisées de l'extrait méthanolique.

L'extrait méthanolique des tiges de *Euphorbiacharacias L.* a une concentration de 0,5 mg/ml, exerce la meilleure activité réductrice avec une absorbance de 0,443 nm.

L'extrait méthanolique des feuilles de *Euphorbiacharacias L.* a une concentration de 0,4 mg/ml, exerce la meilleure activité réductrice avec une absorbance de 0,467 nm.

L'activité réductrice des deux extraits est inférieure à celui de l'acide ascorbique, pour ce dernier, à une concentration de 0,2 mg/ml présente une meilleure activité réductrice avec une absorbance de 1 nm.

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des feuilles de l'*Euphorbia characias* L. possède la meilleure activité réductrice que l'extrait méthanolique des tiges.

On peut dire que, les composés réducteurs qui sont présent dans l'extrait des feuilles sont plus importants que l'extrait des tiges.

Il est nécessaire de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque d'un produit, d'une part, et d'autre part, sa quantité relative dans l'extrait. Ainsi, l'activité marquée d'un extrait peut tout aussi bien provenir d'une faible quantité de constituants très actifs, que d'une grande quantité de constituants peu actifs. De plus, il se peut qu'une activité observée résulte de la somme d'activités de plusieurs constituants (**Calvin, 2001**).

En effet, plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en polyphénols du matériel végétal et sa capacité antioxydante (**Burda et Oleszek, 2001**).

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénolique totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Amamri et Cheikh, 2016**). Cette activité est suffisamment importante pour permettre l'utilisation de la plante de fenouil comme une nouvelle source naturelle d'additifs alimentaires et d'antioxydants puissants en industrie alimentaire.

En conclusion, il convient de dire bien que les teneurs en composés phénolique constituent un facteur de valorisation de la capacité antioxydante des espèces végétale, la qualité de ces molécules serait beaucoup plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de leur propriétés biologiques (**Bettaieb et al., 2016**).

Un bilan bibliographique a montré que le genre *Euphorbia* est souvent utilisé traditionnellement pour traiter des pathologies, Les Euphorbes ont surtout été étudiées pour leur richesse en terpènes contenus dans leur latex. Certains d'entre eux manifestent des activités anti-inflammatoire (**Corea et al., 2005**), anti-nociceptive (**Ahmad et al., 2005**) et anti-tumorale (**Ferreira et al., 2005**). Les flavonoïdes isolés des Euphorbes ont été étudiés pour leur effet antiulcéreux (Lin et al. 1988), antibactérien (**Vijaya et al., 1995**) et antiviral (**Ahnet et al., 2002**).

Une teneur élevée en polyphénols a été trouvée dans l'extrait d'*Euphorbiastenoclada*, s'explique par la présence de tanins. Le genre *Euphorbia* est en effet connu pour sa composition élevée en tanins hydrolysables (Abdulladzhanova *et al.*, 2001 et 2003; Ahnet *et al.*, 1996). Le test au DPPH, Il est bien établi que les composés polyphénoliques peuvent agir comme agents réducteurs, antioxydants donateurs d'hydrogène et piègeurs d'oxygène singulet (Rice-Evans *et al.* 1996; Kandaswami et Middleton, 1994).

L'extrait total d'*E. stenoclad* présente également des propriétés antiradicalaires marquées, liées en partie à la présence d'acide gallique et de tanins hydrolysables (chaabi, 2008).

6. Evaluation de l'activité antalgique des extraits de

l'Euphorbiacharacias L. in vivo :

L'activité antalgique a été évaluée par la méthode préventive ; c'est-à-dire, voir est ce que l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de *l'Euphorbiacharacias L.* administré avant l'injection de l'acide acétique à 1% peut inhiber ou diminuer les contorsions induites par cette injection.

L'objectif de ce test est de suivre les contorsions apparues chez les rats qui ont reçus de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de *l'Euphorbiacharacias L.* et l'injection de l'acide acétique et de les comparer avec celles des rats de contrôle négatif (qui ont reçu de l'eau physiologique), ainsi que celles des rats de contrôle positif (qui ont reçus le paracétamol à la dose de 100mg/Kg)

Le groupe témoin ayant reçue de l'eau physiologique présente après injection intra péritonéale de l'acide acétique à 1%, une moyenne de contorsions de 79 sur une durée de 20 minutes.

L'injection intra péritonéale de paracétamol à la dose de 100 mg/kg, prévient de façon significative l'apparition de contorsions liées à l'injection de l'acide acétique (79 vs 53).

Avec les doses 250, 500 et 750mk/kg de l'extrait aqueux d'*Euphorbiacharacias L.*, les contorsions observées sont significativement différentes de celles observées avec le groupe témoin

Tableau 9 : étude de l'activité antalgique de l'extrait méthanolique d'*Euphorbiacharacias L.* à l'acide acétique.

Doses	Nombre de crampes		Pourcentage d'inhibition	
	Feuille	Tige	Feuille	Tige
Témoin	79	79	-	-
Dose1 (250mg/kg)	67± 13.37	42± 8.99	15.18	46.49
Dose2 (500mg/kg)	34± 4.08	31± 7.58	60.12	60.75
Dose3 (750mg/kg)	30± 2.16	10± 2.62	62.02	87.34
Paracétamol	28	28	64.55	64.55

La majorité des groupes chimiques présents dans l'extrait méthanolique d'*Euphorbiacharacias L.*, comme les tanins, les saponosides, les flavonoïdes et les alcaloïdes, sont extractibles par l'eau.

L'eau semble être le meilleur solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques responsables des différentes activités biologiques, ce qui démontre la pertinence de la forme traditionnelle d'utilisation. (Ekoumou C, 2003)

L'extrait méthanolique présente une activité antalgique selon le test de torsion. Aux doses de 250mg/kg, 500mg/kg et 750mg/kg de poids corporel, a donné des résultats comparables à celui de l'effet antalgique de paracétamol administré à la dose de 100mg/kg.

L'administration intrapéritonéale (IP) d'acide acétique chez les rats a entraîné de vives contractions abdominales. Ces contractions sont dues à la production et à la libération des médiateurs algogènes via les cyclooxygénases (COX) et la biosynthèse des prostaglandines (Elisabetsky et al., 1995), ces médiateurs libérés sensibilisent les nocicepteurs cholinergiques et histaminiques péritonéaux.

Le test à l'acide acétique permet la mise en évidence des effets analgésiques de faibles intensités, mais ce potentiel analgésique est non spécifique (Vogel et Vogel, 1997) car, il n'est pas possible d'indiquer si ce potentiel analgésique résulte d'une action périphérique ou centrale. (Asongalem et al., 2004)

L'administration de paracétamol (100mg/kg) en traitement préventif aux rats a inhibé de façon significative l'action algogène de l'acide acétique. Cette activité analgésique de paracétamol résulte de la suppression de la formation des médiateurs de la douleur dans les tissus périphériques, car elle inhibe l'activité de la COX-1 et de la COX-2 (**Hirose et al., 1984**)

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Euphorbiacharacias L.* présente un effet analgésique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses. Ceci suggère que l'extrait posséderait des composés qui agiraient selon le même mécanisme que le paracétamol, et par ce fait, inhiberait la COX-1 et la COX-2, empêchant la synthèse des prostaglandines. Tous les analgésiques étant doués de la propriété d'inhiber les contorsions abdominales induites par l'acide acétique, ce test est utile pour effectuer un premier tri des substances possédant une action analgésique (**Le Bars et al., 2001**), mais ne permet pas de donner avec précision le mode d'action de la substance testée .

Conclusion générale

Dans la présente étude, nous avons récolté les tiges et les feuilles de l'*Euphorbia characias L.*, les quelles ont été séchées à l'ombre.

Par la suite, l'extrait méthanolique a été préparé par la macération à froid, cet extrait a fait l'objet d'une étude phytochimique, ainsi que quelques tests in vitro et in vivo.

A la lumière des résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

- Le criblage phytochimique caractérisé par réactions colorées a montré la présence de : flavonoïdes, saponosides, polyphénols, alcaloïdes et des tannins (vrais et cathéchique) dans les deux parties (tiges et feuilles) de la plante et la présence des sucres réducteurs seulement dans les tiges de l'*Euphorbia characias L.*

Les quinones, stérols et polyterpènes sont absents dans les deux parties de plante (feuilles et tiges).

- Le dosage colorimétrique :
 - Dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de l'*Euphorbia characias L.* a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

Les teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait des tiges de l'*Euphorbia characias L* représente la teneur la plus élevée de l'ordre de 7,02mgEAG /mg, tandis que la teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait des feuilles de l'ordre de 3,24mgEAG /mg.

- Dosage quantitatif des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique en équivalent à la quercétine.

Les résultats révèlent que l'extrait des feuilles est plus riche en flavonoïdes 461,24g EQ/mg, alors que l'extrait des tiges de l'*Euphorbia characias L.* contient une bonne quantité, mais qui est relativement faible par rapport à celle des feuilles, à teneur de l'ordre de 340,26gEQ /mg.

- Le test d'étude de l'activité biologique in- vitro a permis :
 - La valorisation de la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de l'*Euphorbia characias L.* qui a été effectuée par le

test du DPPH, a révélé que ces extraits possèdent un grand pouvoir de piéger ce radical avec des CI50 de l'ordre de 0,219mg/ml pour les tiges, et 0,324 mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles de notre plante mais ces activités restent relativement faible par rapport à l'antioxydant standard.

- L'évaluation du pouvoir réducteur de ces deux extraits, qui est basé principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺.

L'extrait méthanolique de *Euphorbia characias L.* exerce la meilleure activité réductrice de l'ordre de 0,5mg/ml pour les tiges avec une absorbance de 0,443nm, et une concentration de 0,4mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles avec une absorbance de 0,467nm, mais ces activités sont relativement faible par rapport à l'activité réductrice de l'acide ascorbique (standard).

- De même une tentative a été faite pour l'étude de l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de *Euphorbia characias L.* à l'acide acétique chez les rats *albinos Wistar*, qui a montré que notre plante présente un effet antalgique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses, avec un pourcentage d'inhibition de 87,34% pour l'extrait des tiges dépendant à la concentration de 750mg/kg, et 62,02% pour l'extrait des feuilles dépendant à la concentration de 750 mg/kg.

Notre étude a montré que la plante médicinale *Euphorbia characias L.* est très riche en différents composés métaboliques et présente une bonne activité antioxydante et antalgique qui pourrait être utilisé dans le domaine pharmaceutique.

Davantage de recherche sont nécessaire et d'autres vertus thérapeutiques restent à dévoiler dans l'espoir de trouver, à cette plante, qui demeure peu étudiée, une place en pharmacologie moderne

Résumé

Euphorbia characias L. est une plante vivace très répandue en zone méditerranéenne en lieux sec, appartenant au genre *Euphorbia* utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains composés phytochimiques, ainsi que l'étude de quelques activités biologiques in- vitro et in-vivo de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de *l'Euphorbia characias L.*

Notre travail a porté sur l'étude des extraits méthanoliques des tiges et des feuilles de *l'Euphorbia characias L.*, l'analyse de ces extraits par les tests colorimétrique a révélé la présence de quelques groupes chimiques : flavonoïdes, saponosides, polyphénols, alcaloïdes et des tannins (vrais et cathéchiq) dans les parties(tiges et feuilles) de la plante, et la présence des sucres réducteurs seulement dans les tiges de *l'Euphorbia characias L.*

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait des tiges est de l'ordre de 7, 02mgEAG /mg, tandis que celle de l'extrait des feuilles est de l'ordre de 3,24mgEAG /mg.

La teneur en flavonoïdes a révélé que l'extrait méthanolique des feuilles est plus riche en flavonoïdes 461,24g EQ/mg que l'extrait méthanolique des tiges de *l'Euphorbia characias L.*, dont la teneur est de l'ordre de 340,26gEQ /mg.

Les résultats obtenus pour l'activité antiradicalaire montrent que les extraits possèdent un grand pouvoir de piéger ce radical avec des CI50 de l'ordre de 0,219mg/ml pour les tiges, et 0,324 mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur de ces extraits est de l'ordre de 0,5mg /ml pour les tiges, et une concentration de 0,4mg /ml pour l'extrait méthanolique des feuilles.

Le test pharmacologique réalisé *in vivo* chez les rats *albinos Wistar*, a montré que l'extrait méthanolique de *Euphorbia characias L.* possède une activité antalgique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses, avec un pourcentage d'inhibition de 87,34% pour l'extrait des tiges, et 62,02% pour l'extrait des feuilles dépendant à la concentration de 750 mg/kg.

Mots clés : *Euphorbia characias L.*, activité antioxydant, pouvoir réducteur, phytochimique, activité antalgique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdulladzhanova, NG., Mavlyanov, SM., Dalimov, DN. (2001).** Phenolic compounds of *Euphorbia ferganensis*. Chem Nat Comp. 37(2): p193-4.
- Aganga, A.A., and Mosase, K.W.(2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Ziziphium mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds, Animal Feed Science and Technology. 91, p.107-113.
- Ahmad, V.U., Hussain, H., Bukhari, I.A., Hussain, J., Jassbi, A.R., Dar, A. (2005).** Antinociceptive diterpene from *Euphorbia decipiens*. Fitoterapia; 76(2):p 230-2.
- Ahn, M.J., Kim, C.Y., Lee, J.S., Kim, T.G., Kim, S.H., Lee, C.K., Lee, B.B., Shin, C.G., Huh H and Kim J.(2002).** Inhibition of HIV-1 integrase by galloyl glucoses from *Terminalia chebula* and flavonol glycoside gallates from *Euphorbia pekinensis*. Planta Med; 68: 457-9.
- Akroum, S. (2011).** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse de doctorat. 125p.
- Aliouat, A., Boulkelia, N. (2012).** Activité antioxydant des extraits des graines de la plante *Nigella sativa* L, Diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé : 26.
- Amamri, K., Cheikh, M. (2016).** Etudes phytochimiques et biologiques du Fenouil sauvage, diplôme de master. P 57.
- Ayad, R. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39, 40, 47.
- Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nuclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat. 10 p.
- Belbache, H. (2003).** Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora Desf*, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.
- Bellebcir, L. (2008).** Etude des composés phénoliques en tant Que marqueurs de biodiversité chez les céréales, En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. 119p.

Références bibliographiques

Benaissa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*, Thèse Doctorat. 63p.

Benarous, K. (2009). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes : amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique.

Benot, B. (2015). *Euphorbia characias*. p 6.

BettaiebRebey, L., Sriti, J., Besbes, B., MakhaddminiHammi, I., Hamrouni, A., Sllami, B., Marzouk, B. and Ksouri, R. (2016). Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des grains de fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*), *Journal of New Sciences*. 27(4).pp1478-1487.

Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004). New lanthanide complexes of 4-methyl-7-hydroxy coumarin and their pharmacological activity, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. p50, 120-123.

Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compound by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.

Bouakaz, I. (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*, Mémoire de magister.

Bouziane, N. (2012). Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria*, diplôme de magister en Sciences Agronomiques. p 16

Bruda, S., Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of agricultural and food chemistry*. 49 :2774-2779.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Références bibliographiques

- Calvin, A. (2001).** Investigation phytochimique de trois plantes indonesiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires, *Tinospora crispa*, *Merremiaemarginata* et *Oropheaenneandra*, Thèse de doctorat. 243.
- Cécile, L. (1992).** Les fleurs méditerranéennes. p13.
- Céline, C. (2004).** Les secrets de santé des antioxydants. p 34.
- Chaabi, M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines, diplôme de doctorat en Pharmacognosie. p168, 169.
- Chatter Riahi, R., Tarhouni, S., Kharrat, R. (2011).** Criblage de l'effet anti-inflammatoire
- Christain, M. (2006).** Biochimie structural et métabolique. p 337-338
- Clémentine, B., Mathieu, S., Elena, V., Ilonka, S. (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.), *Revue de Génie Industriel*.p 37.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, Edt Blackwell Publishing Ltd.
- Dacosta, E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs, Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p.
- Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003).** Natural product: their chemistry and biological significance, *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80:65-70.
- Delporte, G., Mascolo, N., Izzo, A., (1999).** *Life, Scien.*, 65(4), 337-53.
- Djadouri, D., Ben Dahra, I. (2014).** Effets potentiels antioxydants et anti inflammatoire de l'homogénat d'*Hélix aspersa* dans un modèle expérimental de colite chimio-induite. p68.
- Djemoui, D. (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique. 53p.
- Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N., Idrissi Hassani, L.M. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaealythroides*, *Bull. Soc. Bordeaux*. p142, 61-78.
- Éloy, Ch. (1888).** Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales, articles scientifique, mis en ligne par denis bliazot. p 1.

Références bibliographiques

- Favier, A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. p 110.
- Feucht, W., Treutter, D., Christ, E. (1997).** Rôle of flavanols in yellowing beech trees of the Black forest, *Tree Physiol.* p17, 335-340.
- Fleuriet, A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier
- Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001).** The *in vitro* dermal absorption and métabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances, *Food and Chemical Toxicology.* p39, 153-162.
- Glombitza, K. W., Gerstberger, G. (1985).** *Phytochemistry* (Elsevier). p24, 543-551.
- Guignard, J.L. (1998).** Abrégé de botanique, Masson (Ed). Paris. 212p.
- Hagerman, A.E. (2002).** Tannin Chemistry, Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).
- Haioun, A., Hamoudi, F. Z. (2015).** Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité, Diplôme de Master en Toxicologie et Santé. p 16.
- Halenge, J. (2007).** Le stress oxydant. p628.
- Halliwell, B. (1990).** How to characterize a biological antioxidant, *Free Radic Res Commun*, 9: 1-3.
- Halmi, S. (2015).** Etude botanique et phytochimique approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus*, diplôme de doctorat, biotechnologie végétale. p17, 25.
- Harborne, J.B., (1980).** Plant Phenolics, *Encyclopedia of Plant Physiology*, New series. p8, 329-402.
- Harold, V.P. (2006).** Antioxidants new research, by now science publisher. Inc. new yourk. p3.
- Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals, fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry.* p68, 2831–2846.

Références bibliographiques

- Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeut.* p96, 67– 202.
- Hiros k, jyoama h, Kojima Y. Eigyi M. hatakyama h, 1984,** pharmacological properties of a new anti inflammatory agent drug, *neurosci.red.* p 280, 286. In **Halmi, S. (2015).**
- Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.
- Jean-Blain, C. (1998).** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins, *Rev.Méd. Vét.* p149, 911 920.
- John, L. E. (2007).** Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. p 315-316.
- Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée. p19, 24.
- Klibet, F. (2016).** Impact du sélénium sur la cytotoxicité induite par l'arsenic chez le rat de la souche Wistar, diplôme de doctorat en Sciences en Biochimie. p10.
- Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N. Z., Dossahoua, T., Laurent, A. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences & Nature Vol.6 N°1:1 - 15*
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- Laraoui, H. (2007).** Etude phytochimique L'extrait chloroformique de *Bupleurumatlanticum*, Docteur de l'université Louis pasteur Chimie Organique.
- Le Bars, D., Gozarium, M., Cadden S, W. (2001).** Évaluation de la douleur aigue chez l'animal d'expérience, Ed, Sci Med, elsevier. P 347-365. In **Halmi, S. (2015).**
- Leinmüller, E., Steingass, H. and Menke, K.H. (1991).** Tannins in Ruminant feedstuff.
- Louis-Félix, N.S.(2015).** Etude de l'activité antivirale d'extraits d'Euphorbia de Corse :recherche de nouveaux diterpènes d'intérêt biologique, Thèse doctorat. p 44-46.

Références bibliographiques

- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). p36.
- Malecky, M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L, Pour obtenir le Diplôme de magister.87p.
- Marie, C. M., Monique S. (1992).** Actifs et additifs en cosmétologie. p 686, 841, 586.
- Maslong, C., Delarozière, M.F. (2007).** Herbier méditerranéen. p 71.
- Mauro, N. M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat. p13, 16-28.
- Mergem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. p128, 142.
- Midoun, T. (2011).** Extraction Des Composés Phénoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique, Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master. 53p.
- Mouffok, S. (2011).** Etude des métabolites secondaires de *Centaurea pubescens* ssp. *omphalotricha* (asteraceae), mémoire de magister en chimie organique. 46p.
- Mueller-Harvey, I. (2001).** Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* p91, 3-20.
- Mueller-Harvey, I., Mc Allan, A.B. (1992).** Tannins: their biochemistry and nutritional properties, *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* p1, 151-217.
- Najjaa, N., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Emna, A., Neffati, M. (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L, *Acta Bot. Gallica*, 158(1), 111-123.
- Nasri, I., Hadje Brahim, M. (2014).** Apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète, diplôme de master en biologie animal. p 22, 25
- Oleg, P., Anthony, H. (1965).** Fleurs du bassin méditerranéen. p152.

Références bibliographiques

- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, JO. (1999).** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin, Vaisseaux, Cœur, Poumons - Vol 4 :1.
- Pintus, F., Delia, S., Claudia, M., Alberto, M., Giovanni, F., Rosaria, M. (2013).** Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties of Euphorbiaceae Latex, records of natural products, vol 147-151.
- Pire, M. (2011).** Caoutchouc Naturel Epoxydé et Réticulation par les Acides Dicarboxyliques : Chimie, Cinétique et Propriétés Mécaniques, Thèse De Doctorat. 217 p.
- Popovici, C., Ilonka, S., Bartek, T. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de Génie Industriel. p27-28.
- Porter, L. J. (1989).** Methods in Plant Biochemistry. p1, 389-419.
- Pujuguet, P. (2008).** Sentier botanique vigneron, Bourg-Saint-Andéol ARDECHE. p30.
- Rakotonanahary, M. (2012).** Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.
- Rhattas, M., Allal, D., Lahcen, Z. (2015).** Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc), Journal of Applied Biosciences. p9200.
- Rice-Evans, CA., Miller, NJ., Paganga, G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med; 20(7): 933-56.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. p45, 287-306.
- Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N. (2001).** Analysis of condensed tannins, a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* p91, 21-40.
- Sédillot, M. (1811).** Journal général de médecine de chirurgie, de pharmacie. p21, 28.
- Wang, H., Zhoo, M., Yang, B., Jiang, Y., Rao, G. (2008).** Identification of polyphenols in *Labacco* leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food chemistry*, 107:1399-1406.

Références bibliographiques

Wilhelm, N. (1998). Botanique générale. 10eme Ed. De boeck. Paris, bruxelles. 319p.

Yusuf, Y. (2006). Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.

Yves-Alain, B., Janat, A., Mamyrbekova, B., Boua, B., Fézan, H. Trabi., Ehouan, E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. and Zarucchi (Caesalpinaceae), Sciences & Nature Vol. 4 N°2 : 217 – 225.

Sites de web électroniques

[http:// www.plantegrassefrontignan.fr](http://www.plantegrassefrontignan.fr)

[http:// www.tela-botanica.org.](http://www.tela-botanica.org)

http://eduscol.education.fr/ressources_SVT_TS

<http://www.animateur-nature.com>

[http://www.revue-genie-industriel.info.](http://www.revue-genie-industriel.info)

<http://www.robinarma.com>

<http://www.vegetox.envt.fr>

Références bibliographiques

Résumé

Euphorbia characias L. est une plante vivace très répandue en zone méditerranéenne en lieux sec, appartenant au genre *Euphorbia* utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains composés phytochimiques, ainsi que l'étude de quelques activités biologiques in- vitro et in-vivo de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de *l'Euphorbia characias L.*

Notre travail a porté sur l'étude des extraits méthanoliques des tiges et des feuilles de *l'Euphorbia characias L.*, l'analyse de ces extraits par les tests colorimétrique a révélé la présence de quelques groupes chimiques : flavonoïdes, saponosides, polyphénols, alcaloïdes et des tannins (vrais et cathéchique) dans les parties(tiges et feuilles) de la plante, et la présence des sucres réducteurs seulement dans les tiges de *l'Euphorbia characias L.*

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait des tiges est de l'ordre de 7,02mgEAG /mg, tandis que celle de l'extrait des feuilles est de l'ordre de 3,24mgEAG /mg.

La teneur en flavonoïdes a révélé que l'extrait méthanolique des feuilles est plus riche en flavonoïdes 461,24g EQ/mg que l'extrait méthanolique des tiges de *l'Euphorbia characias L.*, dont la teneur est de l'ordre de 340,26gEQ /mg.

Les résultats obtenus pour l'activité antiradicalaire montrent que les extraits possèdent un grand pouvoir de piéger ce radical avec des CI50 de l'ordre de 0,219mg/ml pour les tiges, et 0,324 mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur de ces extraits est de l'ordre de 0,5mg /ml pour les tiges, et une concentration de 0,4mg /ml pour l'extrait méthanolique des feuilles.

Le test pharmacologique réalisé in vivo chez les rats *albinos Wistar*, a montré que l'extrait méthanolique de *l'Euphorbia characias L.* possède une activité antalgique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales à toutes les doses, avec un pourcentage d'inhibition de 87,34% pour l'extrait des tiges, et 62,02% pour l'extrait des feuilles dépendant à la concentration de 750 mg/kg.

Mots clés : *Euphorbia characias L.*, activité antioxydant, pouvoir réducteur, phytochimique, activité antalgique.

Abstract

Euphorbia Characias L. is a perennial plant widespread in the Mediterranean area in dry places, belonging to the genus *Euphorbia* used in traditional medicine for its therapeutic properties.

This study is a scientific contribution to the determination of some phytochemicals and the study of some biological activities in- vitro and in - vivo of the methanol extract of the stems and leaves of *Euphorbia characias L.*

Our work has focused on the study of the methanol extracts of the stalks and leaves of *Euphorbia characias L.*, analysis of these extracts by colorimetric tests revealed the presence of some chemical groups: flavonoids, saponins, polyphenols, alkaloids and tannins (both real and cathélique) in portions (stalks and leaves) of the plant, and the presence of reducing sugars only in the stems of *Euphorbia characias L.*

The total polyphenol content of the extract of the stalks is of the order of 7,02mgEAG / mg, while that of the extract of the leaves is in the range of 3,24mgEAG / mg.

Flavonoid content showed that the methanol extract of the leaves is rich in flavonoids 461,24g EQ / mg that the methanol extract of the stalks of *Euphorbia characias L.*, the content is of the order of 340,26gEQ / mg.

The results for the anti-radical activity show that the extracts have great power to trap this radical with IC50 of about 0,219mg / ml for the stalks, and 0.324 mg / ml for the methanol extract of the leaves.

The results of the evaluation of the reducing power of these extracts are of the order of 0.5mg / ml for the stalks, and a concentration of 0.4 mg / ml methanolic extract from the leaves.

Pharmacological test performed in vivo in Wistar albino rats, showed that the methanol extract of *Euphorbia characias L.* has a significant analgesic activity by reducing the number of abdominal contortions at all doses, with a percentage of inhibition 87.34% for the extract of the stalks, and 62.02% for the extract of leaves dependent concentration de750 mg / kg.

Keywords: *Euphorbia characias L.*, the antioxidant activity, reducing power, phytochemical, analgesic activity.

Euphorbiacharacias L هو نبات معمر واسع النطاق في منطقة البحر الأبيض المتوسط وفي الأماكن الجافة ، تنتمي إلى جنس الفربيون تستخدم في الطب التقليدي لخصائصه العلاجية .

وتعد هذه الدراسة مساهمة علمية ل تحديد بعض المواد الكيميائية النباتية ، ودراسة بعض الأنشطة البيولوجية في المختبر وفي الجسم الحي من مستخلص

الميثانول من السيقان و الأوراق *Euphorbiacharacias L* وقد ركز عملنا على دراسة مستخرج الميثانول من سيقان وأوراق

Euphorbiacharacias L

وكشف تحليل هذه مستخرجات من التجارب اللونية وجود بعض المجموعات الكيميائية :فلافونيدات ، الصابونين ، بولييفينول ، قلوبات و العفص (سواء حقيقية و cathéchique) في الأجزاء (سيقان وأوراق) لهذه النبتة ، ووجود

السكريات المرجعية فقط في جذور *Euphorbiacharacias L*.

محتوى البولييفينول الكلي لمستخرج الجذور حوالي 7, 02mgEAG /mg ، في حين

أن مستخرج أوراق في نطاق 3,24mgEAG /mg.

أظهر محتوى الفلافونويد أن **مستخلص** الميثانول من الأوراق غنية

بالفلافونيداتمكافئ ل461,24g EQ/mg ، اما مستخرج المثلي ل

جذور *Euphorbiacharacias L* ، حوالي 340,26gEQ /mg.

اختبار الدوائية التي أجريت في الجسم الحي في الفئران البيضاء ويستار، أظهر أن مستخلص الميثانول من لديه نشاط كبير مسكن عن طريق الحد من عدد من التشنجات البطن في كل جرعة، *L. الفربيون characias* .ملغ / كغ 750 de من لمستخرج سقان و62.02% لمستخرج أوراق يعتمد تركيزا مع نسبة تثبيط 87.34%.

