

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE SAÏDA - Dr MOULAY TAHAR



Faculté des Sciences  
Département de Chimie

# MEMOIRE

Présenté par :  
Beghadid Fatma  
Bouziane Khadra

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de Master en Chimie**

Spécialité : Chimie Organique

## Thème

**Etude phytochimique de deux plantes médicinales  
de la région de Saida**

Soutenu le 13/07/2021 devant le jury composé de :

|            |                     |     |                     |
|------------|---------------------|-----|---------------------|
| Présidente | Chabani Malika      | MCB | Université de Saida |
| Encadrant  | Kebir Tahar         | MCB | Université de Saida |
| Examineur  | Benhlime Abdelkader | MCA | Université de Saida |

Année universitaire 2020/2021

## Remerciements

---

Avant toute chose, nous remercions ALLAH,  
le tout puissant, pour nos avoir donnés la force et la patience.

Nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements et nos vives connaissances à monsieur **Kebir Tahar**, maître de conférences à la faculté des sciences, université de Saida pour avoir encadré et dirigé ce mémoire avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé pour réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à madame **Chabani Malika**, maître de conférences à la faculté des sciences, Université de Saida d'avoir accepté de présider le jury.

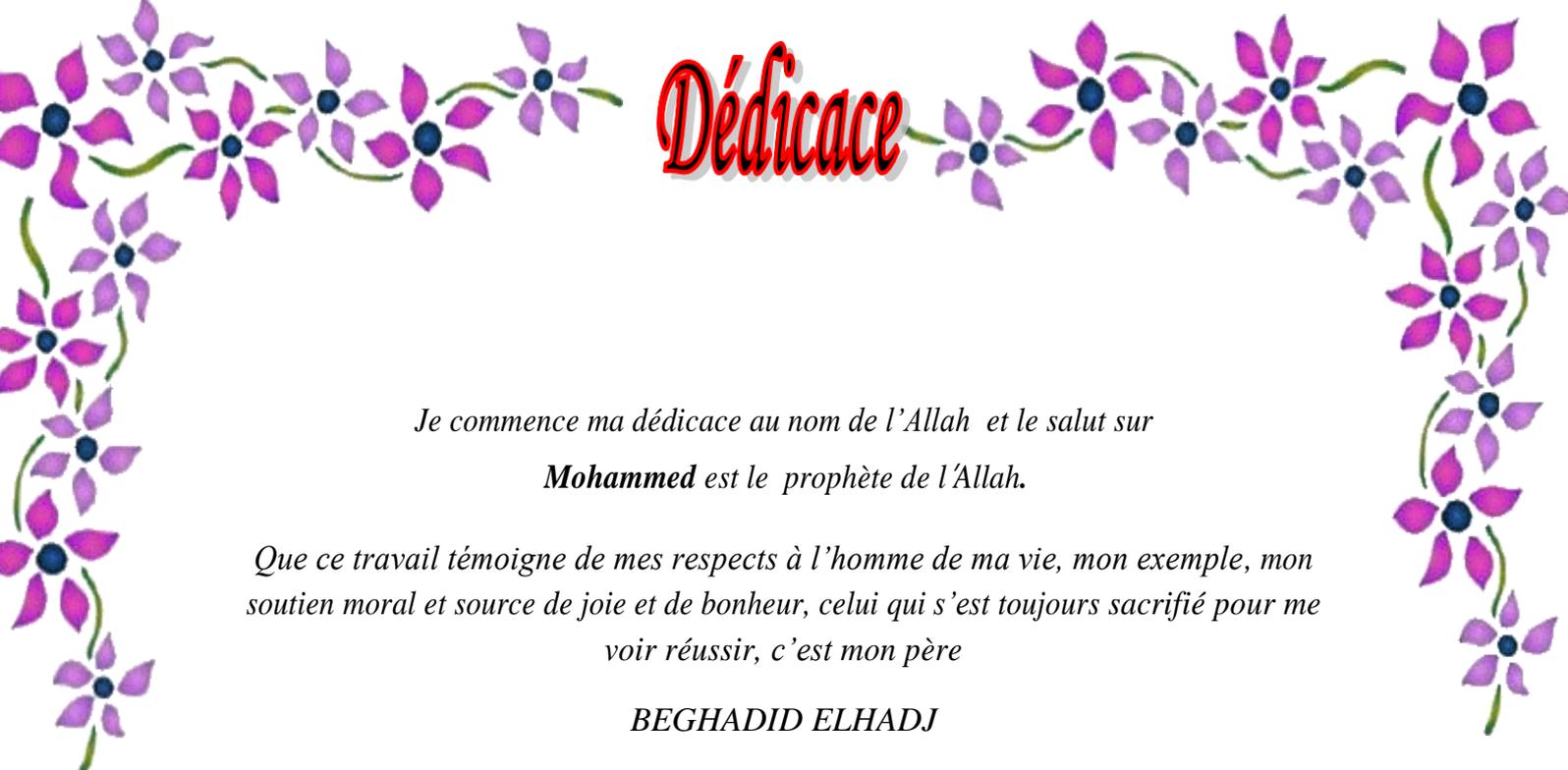
Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à monsieur **Benhlime Abdelkader**, maître de conférences à l'université de Saida pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.

Un remerciement spécial aux personnels des laboratoires de chimie et de biologie de l'université de Saida particulièrement monsieur Boudou Farouk ingénieur de laboratoire pour leurs aides.

Nos remerciements vous également à tous nos enseignants, qu'ils veuillent bien trouver ici nos expression de notre profonde gratitude.

\*\*\*\*\*

Nous remercions tout particulièrement nos familles qui nous a toujours soutenus dans nos choix, et qui ont été présentes chaque fois que cela a été nécessaire.



# Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom de l'Allah et le salut sur  
Mohammed est le prophète de l'Allah.*

*Que ce travail témoigne de mes respects à l'homme de ma vie, mon exemple, mon  
soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me  
voir réussir, c'est mon père*

*BEGHADID ELHADJ*

*Et à la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de  
mon cœur, ma vie et mon bonheur; maman que j'adore, je remercie  
de m'avoir donné tant d'amour et de tendresse*

*Je suis très fier d'être une fille de.*

*HAMEK KHEIRA*

*En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail  
Est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissante.  
Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure que des  
Cadeaux*

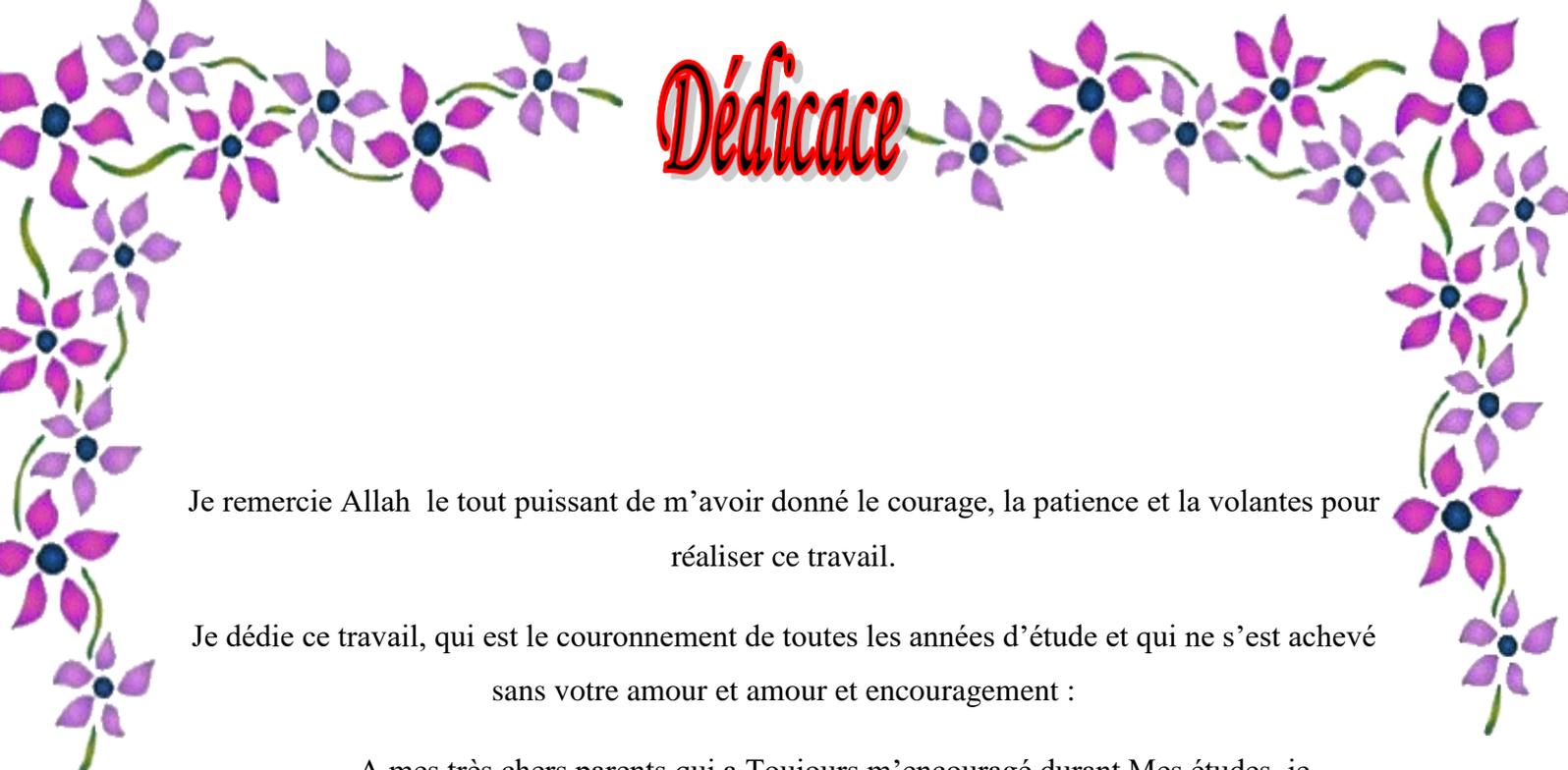
*Mes remerciements sont particulièrement adressés au :*

*A tous mes frères, à la famille: BEGHADID sans exceptions*

*Et tous mes AMIES*

*« Ce Mémoire à vous tous »*

**Fatma**



# Dédicace

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience et la volantes pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'étude et qui ne s'est achevé sans votre amour et amour et encouragement :

A mes très chers parents qui a Toujours m'encouragé durant Mes études, je n'oublierai jamais leur sacrifice pour moi, je lui dis merci maman. Votre affection sans limites, m'a accompagnée tout le long de la réalisation de cette œuvre. Je ne pourrai jamais vous en remercier assez.

A mon encadreur Dr KEBIR T, pour sa présence et ses conseil, et merci pour votre encadrement, votre disponibilité.

A mes frères, mes sœurs et a tout les membres de ma famille Bouziane.

A mon fiancé, qui est la personne la plus important à mon cœur, de m'avoir soutenu dans mes moments les plus difficiles et patiemment réconforté et encouragé.

A mes amies avec lesquelles j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie. A toute personne qui me connait. Pour votre amour sincérité, encouragement et les bons moments passés.

**KHADRA**

# Table des matières

|  |    |
|--|----|
| Remerciements  |    |
| Dédicace   |    |
| Liste des abréviations   |    |
| Liste des figures  |    |
| Liste des tableaux   |    |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE.....   | 1  |
| <b>SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE</b>   |    |
| <b>Chapitre I: Généralités sur les plantes médicinales</b>                     |    |
| I.1 Les plantes médicinales.....   | 3  |
| I.1.1 Généralités.....   | 3  |
| I.1.2 Définition de plante médicinale.....                                     | 4  |
| I.1.3 Domaine d'application.....   | 4  |
| I.1.4 Phytothérapie.....   | 4  |
| I.1.4.1 Les avantages de la phytothérapie.....                                 | 4  |
| I.1.4.2 Les inconvénients de la phytothérapie.....                             | 5  |
| I.1.5 Modes de préparations des plantes médicinales .....                      | 6  |
| I.1.5.1 L'infusion.....  | 6  |
| I.1.5.2 Macération.....  | 7  |
| I.1.5.3 La décoction.....  | 7  |
| I.1.5.4 Poudre.....  | 7  |
| I.1.5.5 Sirops.....  | 8  |
| I.1.5.6 Crèmes.....  | 8  |
| I.2 Investigation botanique et ethno pharmacologique des plantes étudiées..... | 9  |
| I.2.1 <i>Ruta Montana L.</i> .....   | 9  |
| I.2.1.1 Le nom commun de cette plante.....                                     | 8  |
| I.2.1.2 Classification systématiques.....                                      | 9  |
| I.2.1.3 Description botanique.....   | 9  |
| I.2.1.4 Distribution géographique en Algérie.....                              | 11 |
| I.2.1.5 Activité pharmacologique de <i>Ruta Montana</i> .....                  | 11 |
| I.2.1.6 Utilisation de <i>Ruta Montana</i> en médecine traditionnelle.....     | 11 |
| I.2.1.7 Composition chimique de <i>Ruta Montana</i> .....                      | 11 |
| I.2.1.8 La toxicité de <i>Ruta Montana</i> .....                               | 12 |
| I.2.2 <i>Pistacia lentiscus L.</i> .....                                       | 13 |
| I.2.2.1 Noms de la plante.....   | 13 |
| I.2.2.2 Classification systématique.....                                       | 13 |
| I.2.2.3 Description botanique.....   | 14 |
| I.2.2.4 Aires de répartition.....  | 15 |
| I.2.2.5 Utilisation du lentisque en médecine et pharmacologie .....            | 16 |
| I.2.2.6 Composition chimique.....  | 17 |
| <b>Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires</b>               |    |
| II.1 Métabolites primaires.....  | 18 |
| II.2 Métabolites secondaires.....  | 18 |
| II.2.1 Les composés phénoliques.....   | 19 |
| II.2.1.1 Généralités.....  | 19 |
| II.2.1.2 Classe des polyphénols.....   | 20 |
| II.2.1.2.1 Les acides phénoliques.....   | 20 |
| II.2.1.2.2 Flavonoïdes.....  | 21 |
| II.2.1.2.3 Anthocyanosides.....  | 25 |
| II.2.1.2.4 Tanins .....  | 26 |
| II.2.1.2.5 Les coumarines.....   | 27 |
| II.2.1.2.6 Les composés terpéniques .....                                      | 28 |
| II.2.1.2.7 Les saponosides.....  | 29 |
| II.2.1.2.8 Les Alcaloïdes.....   | 30 |

# Table des matières

## PARTIE EXPERIMENTALE

### Chapitre III : Matériel et Méthodes

|   |           |
|---|-----------|
| III.1 Matériel végétal.....   | 33        |
| III.2 Récolte de nos plantes .....  | 33        |
| III.3 Préparation et conservation du matériel végétal.....                  | 35        |
| III.4 Détermination de la teneur en eau (humidité).....                     | 35        |
| III.4.1 Principe.....   | 35        |
| III.4.1.1 Matériel.....   | 35        |
| III.4.1.2 Technique suivie.....   | 35        |
| III.4.1.3 Expression des résultats.....                                     | 36        |
| III.5 Détermination du pH.....  | 36        |
| III.5.1 Mode opératoire.....  | 36        |
| III.6 Protocoles d'extraction des métabolites secondaire.....               | 36        |
| III.6.1 Extraction par infusion.....  | 37        |
| III.6.2 Extraction par décoction.....                                       | 37        |
| III.6.3 Extraction par macération.....                                      | 37        |
| III.6.4 Détermination du rendement d'extraction.....                        | 37        |
| III.7 Extraction de l'huile essentielle.....                                | 38        |
| III.7.1 Hydrodistillation.....  | 38        |
| III.7.2 Evaluation du rendement en Huile essentielle .....                  | 38        |
| III.8 Tests phytochimiques ou Screening phytochimique .....                 | 39        |
| III.8.1 Mise en évidence d'Amidon .....                                     | 39        |
| III.8.2 Mise en évidence des saponosides.....                               | 39        |
| III.8.3 Protocole d'indentification des anthraquinose.....                  | 40        |
| III.8.4 Mise en évidence de Tanins.....                                     | 40        |
| III.8.5 Mise en évidence des Flavonoïdes.....                               | 40        |
| III.8.6 Protocole d'identification des Alcaloïdes.....                      | 40        |
| III.8.7 Protocole d'identification des composés réducteurs.....             | 41        |
| III.8.8 Protocole d'identification des Anthracénosides.....                 | 41        |
| III.8.9 Protocole d'identification des coumarines.....                      | 41        |
| III.8.10 Protocole d'identification des Anthocyanosides .....               | 42        |
| III.9 Réactifs de caractérisation .....                                     | 42        |
| III.9.1 Alcaloïdes .....  | 42        |
| III.9.2 Amidon.....   | 42        |
| III.9.3 Stéroïdes, hétérosides stéroïdiques et tri terpéniques.....         | 43        |
| III.9.4 Anthraquinones et Anthracénosides.....                              | 43        |
| III.9.5 Composés réducteurs.....  | 43        |
| III.10 Analyse quantitative des composés poly phénoliques.....              | 43        |
| III.10.1 Principe.....  | 44        |
| III.10.2 Dosage des composés phénoliques totaux.....                        | 44        |
| III.10.3 Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....      | 44        |
| III.10.4 Expression des résultats.....                                      | 44        |
| III.11 Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH.....                  | 46        |
| III.11.1 Principe du test de DPPH.....                                      | 46        |
| III.11.2 Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie..... | 47        |
| III.11.3 Expression des résultats.....                                      | 48        |
| III.11.4 Calcul des concentrations 50%IC <sub>50</sub> .....                | 48        |
| III.11.5 Calcul des pourcentages de piégeage.....                           | 49        |
| <b>Chapitre IV : Résultat et Discussion.....</b>                            | <b>50</b> |
| IV.1 Teneurs en eau (l'humidité (H)).....                                   | 50        |
| IV.2 Matière sèche (Ms).....  | 50        |

## Table des matières

---

|   |    |
|---|----|
| IV.3 Le pH.....   | 51 |
| IV.4 Détermination du rendement d'extraction.....                           | 51 |
| IV.5 Criblage Phytochimique.....  | 54 |
| IV.6 Teneur en polyphénols Totaux.....                                      | 58 |
| IV.7 Huile essentielle.....   | 60 |
| IV.8 Evaluation du pouvoir antioxydant contre le DPPH.....                  | 60 |
| IV.8.1 pouvoir d'inhibition (PI) par l'acide ascorbique contre le DPPH..... | 61 |
| IV.8.2 <i>Ruta Montana L</i> .....  | 62 |
| IV.8.3 <i>Pistacia lentiscus L</i> .....                                    | 65 |
| IV.8.4 Calcul des IC50.....   | 66 |
| IV.8.5 Le calcul de l'efficacité anti-radicalaire (EAR).....                | 67 |
| <b>CONCLUSION GENERALE</b> .....  | 70 |
| <b>Références bibliographiques</b> .....                                    | 72 |
| <b>Annexe</b>   |    |
| <b>Résumé</b>   |    |

## Liste des abréviations

---

**Abs** : Absorption.  
**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.  
 $\lambda$  : longueur d'onde.  
**DO** : densité optique.  
**mg/g** : milligramme par gramme.  
**g**: gramme.  
**mL** : millilitre.  
 $\mu\text{l}$  : microlitre.  
**UV**: Ultra-violet.  
**L**: litre.  
**IP %**: pouvoir d'inhibition.  
**IC50** : concentration inhibitrice  
**Ms**: matière sèche.  
**C** : concentration.  
**M**: masse.  
 $^{\circ}\text{C}$  : degré.  
**R** : rendement.  
**%** : pourcentage.  
**mg/mL** : milligramme par millilitre.  
**EAG** : Equivalent d'Acide Gallique.  
**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.  
**ExF** : extrait des feuilles.  
**ExG** : extrait des graines.  
**ExT** : extrait des tiges.  
**ExRa** : extrait des rameaux.  
**ExR** : extrait des racines.  
**ExFP** : extrait des feuilles de *P. lentiscus*.  
**R. Montana** : *Ruta Montana*.  
**P. lentiscus** : *Pistacia lentiscus*.  
 $\varphi$ - **OH** : phénol.  
**EAR** : efficacité anti-radicalaire.  
**T**: Teneur.  
**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungestique.  
**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**: Acide phosphomolybdique.  
**HE** : huile essentielle.  
**OMS** : organisation mondiale de la santé.  
**A<sub>0</sub>** : absorbance du contrôle (sans extrait)  
**A<sub>1</sub>** : absorbance de l'extrait.  
**H** : humidité.  
**ETOH** : éthanol  
**ED** : extraction par décoction.  
**EI** : extraction par infusion.  
**EM** : extraction par macération.  
**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure ferrique.

## LISTE DES FIGURES

|                      |  |      |
|----------------------|--|------|
| <b>Figure I.1.</b>   | Infusion   | p.5  |
| <b>Figure. I.2.</b>  | Macération   | p.5  |
| <b>Figure. I.3.</b>  | Décoction  | p.6  |
| <b>Figure. I.4.</b>  | Poudre   | p.6  |
| <b>Figure. I.5.</b>  | Sirop  | p.7  |
| <b>Figure. I.6.</b>  | Crème  | p.7  |
| <b>Figure. I.7.</b>  | <i>Ruta Montana L</i>  | p.8  |
| <b>Figure. I.8.</b>  | Tiges  | p.9  |
| <b>Figure. I.9.</b>  | Feuilles   | p.9  |
| <b>Figure. I.10.</b> | Fruits   | p.10 |
| <b>Figure. I.11.</b> | Graines d  | p.10 |
| <b>Figure. I.12.</b> | Fleurs   | p.10 |
| <b>Figure. I.13.</b> | Racines  | p.10 |
| <b>Figure. I.14.</b> | Toxicité de <i>Ruta montana</i>  | p.12 |
| <b>Figure. I.15.</b> | <i>Pistacia lentiscus L</i>  | p.13 |
| <b>Figure. I.16.</b> | Feuilles de <i>Pistacia lentiscus L</i>                                      | p.14 |
| <b>Figure. I.17.</b> | Fruits de <i>Pistacia lantiscus L</i>  | p.14 |
| <b>Figure. I.18.</b> | L'écorce de <i>Pistacia lentiscus L</i>                                      | p.14 |
| <b>Figure. I.19.</b> | Mastic de <i>Pistacia lentiscus L</i>  | p.15 |
| <b>Figure. I.20.</b> | Branches de <i>Pistacia lentiscus L</i>                                      | p.15 |
| <b>Figure. I.21.</b> | Répartition géographique de lentisque dans le monde                          | p.15 |
| <b>Figure. I.22.</b> | Répartition géographique de lentisque sur la mer méditerranéenne             | p.16 |
| <b>Figure II.1.</b>  | Structure générale des Flavonoïdes   | p.21 |
| <b>Figure II.2.</b>  | Structure des flavones   | p.22 |
| <b>Figure II.3.</b>  | Structure de flavonols   | p.22 |
| <b>Figure II.4.</b>  | Structure des flavanones.  | p.22 |
| <b>Figure II.5.</b>  | Structure des isoflavone.  | p.23 |
| <b>Figure II.6.</b>  | Structure des chalcones et des aurones                                       | p.23 |
| <b>Figure II.7.</b>  | Structure des hétérosides flavonique   | p.24 |
| <b>Figure II.8.</b>  | Structures générales des anthocyanosides.                                    | p.25 |
| <b>Figure II.9.</b>  | Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).                 | p.26 |
| <b>Figure II.10.</b> | Structure des tanins condensés   | p.27 |
| <b>Figure II.11.</b> | Structure général des coumarines   | p.27 |
| <b>Figure II.12.</b> | Structure générale d'isoprène  | p.28 |
| <b>Figure II.13.</b> | Structure de spirostane  | p.29 |
| <b>Figure II.14.</b> | Structure des saponosides à génines tri-terpinique                           | p.30 |
| <b>Figure II.15.</b> | Structure de l'Aconitine (C <sub>34</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>11</sub> ) | p.32 |
| <b>Figure III.1.</b> | <i>Ruta Montana L</i>  | p.33 |
| <b>Figure III.2.</b> | <i>Pistacia lentiscus L</i>  | p.33 |
| <b>Figure III.3.</b> | La carte géographique des endroits de la récolte de nos plantes.             | p.34 |
| <b>Figure III.4.</b> | Montage d'hydrodistillation  | p.38 |
| <b>Figure III.5.</b> | Spectrophotomètre utilisé pour le dosage                                     | p.45 |

|                      |   |      |
|----------------------|---|------|
| <b>Figure III.6.</b> | Ensemble de nos échantillons à doser par spectrophotomètre.   | p.45 |
| <b>Figure III.7.</b> | Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive  | p.47 |
| <b>Figure IV.1.</b>  | Courbe d'étalonnages de l'acide gallique.   | p.58 |
| <b>Figure IV.2.</b>  | Histogrammes illustrant les teneurs des polyphénols totaux des différents extraits bruts de <i>R. Montana</i> et de <i>P. lentiscus</i> en mg EGA /g d'extrait. | p.59 |
| <b>Figure IV.3.</b>  | Réduction d'un antioxydant avec le radical DPPH•.   | p.61 |
| <b>Figure IV.4.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.  | p.62 |
| <b>Figure IV.5.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des feuilles  | p.62 |
| <b>Figure IV.6.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des graines.  | p.63 |
| <b>Figure IV.7.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des rameaux   | p.63 |
| <b>Figure IV.8.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des tiges.  | p.64 |
| <b>Figure IV.9.</b>  | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des racines.  | p.65 |
| <b>Figure IV.10.</b> | Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des feuilles de <i>P.lentiscus</i>  | p.66 |

## LISTE DES TABLEAUX

|                        |   |      |
|------------------------|---|------|
| <b>Tableau II.1 :</b>  | Exemples des acides hydrobenzoïques   | p.20 |
| <b>Tableau II.1 :</b>  | Les principaux acides hydroxycinnamiques  | p.21 |
| <b>Tableau II.1 :</b>  | Principaux types de coumarines  | p.28 |
| <b>Tableau III.1 :</b> | Caractéristiques géographiques et bioclimatiques d'Houinet, wilaya de Saida.  | p.34 |
| <b>Tableau IV.1 :</b>  | Le taux d'humidité dans les différentes parties de <i>Ruta Montana</i> et <i>Pistacia lentiscus</i>   | p.50 |
| <b>Tableau IV.2 :</b>  | La matière sèche (Ms) dans nos échantillons de <i>R.Montana</i> et <i>P. lentiscus</i> exprimée en (%).   | p.50 |
| <b>Tableau IV.3 :</b>  | pH des différents extraits aqueux de <i>R. Montana</i> et <i>P. lentiscus</i> .   | p.51 |
| <b>Tableau IV.4 :</b>  | Données opératoires d'extractions par décoction effectuée sur les différentes parties de <i>R. Montana</i> et les feuilles de <i>P. lentiscus</i> . | p.52 |
| <b>Tableau IV.5 :</b>  | Données opératoires d'extractions par infusion effectuée sur les différentes parties de <i>R. Montana</i> et les feuilles de <i>P. lentiscus</i> .  | p.52 |
| <b>Tableau IV.6 :</b>  | Données opératoires d'extractions par macération effectuée sur les différentes parties de <i>R. Montana</i> et les feuilles de <i>P.lentiscus</i> . | p.53 |
| <b>Tableau IV.7 :</b>  | Les résultats des tests phytochimiques des extraits aqueux obtenus par trois techniques d'extraction (ED, EI et EM).                                | p.55 |

|                        |   |      |
|------------------------|---|------|
| <b>Tableau IV.8 :</b>  | Les résultats des tests phytochimiques des extraits éthanolique obtenus par trois techniques d'extraction (ED, EI et EM).             | p.56 |
| <b>Tableau IV.9 :</b>  | Les résultats des tests phytochimiques des extraits diétherique obtenus par un seul mode d'extraction (ED).                           | p.57 |
| <b>Tableau IV.10 :</b> | Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique dans l'eau.   | p.58 |
| <b>Tableau IV.11 :</b> | Résultats de dosage des composés phénoliques totaux des extraits.   | p.59 |
| <b>Tableau IV.12 :</b> | Teneurs en polyphénols totaux des extraits aqueux de <i>R. Montana</i> et <i>P. lentiscus</i> en mg EAG/g d'extrait (mode décoction). | p.59 |
| <b>Tableau IV.13 :</b> | Le rendement d'huiles essentielles de <i>P. lentiscus</i> .   | p.60 |
| <b>Tableau IV.14 :</b> | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique ( $A_0= 0,747$ ).  | p.61 |
| <b>Tableau IV.15 :</b> | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des feuilles.  | p.62 |
| <b>Tableau IV.16 :</b> | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des graines.   | p.63 |
| <b>Tableau IV.17:</b>  | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des rameaux.   | p.63 |
| <b>Tableau IV.18:</b>  | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des tiges.   | p.64 |
| <b>Tableau IV.19:</b>  | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des racines.   | p.65 |
| <b>Tableau IV.20:</b>  | Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des feuilles de <i>P. lentiscus</i>                              | p.66 |
| <b>Tableau IV.21:</b>  | Valeurs des IC50 des différents extraits et de l'acide Ascorbique.  | p.67 |
| <b>Tableau IV.22:</b>  | Valeurs des efficacités anti radicalaires (EAR) des différents extraits et de l'acide Ascorbique.                                     | p.68 |

## INTRODUCTIO GENERALE

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brillante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels de domaines tels que la biotechnologie et la chimie computationnelle. Cela tient principalement au fait que le règne végétal est une source présumée inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels, tout en étant accessible au plus grand nombre, y compris dans les pays en voie de développement. De plus cette science évolue et s'affine sans cesse avec l'amélioration des instruments d'investigation (méthodes préparatives et analytiques, tests de dépistage d'activité) et de l'accès à l'information scientifique.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale, Méditerranéenne, semi-aride et désertique. Cette flore estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable [1].

La willaya de Saida (ouest Algérie)couvert elle-même une biodiversité immense, mais malgré ça, il y a eu peu d'efforts consacrés aux enquêtes ethnobotaniques auprès des herboristes et la population qui visent au recensement des plantes médicinales qui les en englobe cette région ainsi qu'au développement des agents thérapeutiques qui pourraient être classés comme des médicaments.

Devant cette rareté d'informations sur les plantes médicinales disponibles à Saida et à la recrudescence de l'efficacité et spectre d'activité des médicaments contre une grande variété d'espèces bactériennes et fongiques responsables des infections nosocomiales, la nécessité de la recherche de nouvelles molécules actives est impérativement indispensable.

Dans ce cadre la, nous nous somme intéressés à la valorisation et l'exploitation de deux plantes médicinales de la région de Saida, il s'agit de *Ruta Montana L* (Fidjel) et *Pistacia lentiscus L.* (Darou).

Ce mémoire s'articule principalement en deux parties :

✓ ***Première Partie : Synthèse bibliographique***

Cette partie comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre rassemble des généralités sur les plantes médicinales ainsi qu'une description de la famille botanique des deux espèces *Ruta Montana L* et *Pistacia lentiscus L*
- Le second chapitre est consacré aux métabolites secondaires.

✓ ***Deuxième Partie : Partie expérimentale***

Cette partie regroupe deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit le matériel et les protocoles expérimentaux utilisés pour l'obtention des différents extraits des deux plantes ainsi que ceux adoptés pour l'étude phytochimique.
- Le second chapitre est consacré à la présentation et à l'interprétation des différents résultats expérimentaux obtenus.

La méthode du travail, que nous avons adoptée, est basée sur une action pluridisciplinaire, visant la valorisation de la matière végétale. Cette méthode permet de relier les éléments d'information apportés par les botanistes au travail des chimistes et des biologistes.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I.1. Les plantes médicinales**

### **I.1.1. Généralité**

De puis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies, l'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt au près du public, selon l'organisation mondiale de la santé environ 65-80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne [2].

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs. Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs ou certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes [3].

Les plantes médicinales sont un patrimoine précieux de l'humanité, en particulier pour la plupart des communautés pauvres des pays en développement. Leurs principaux soins médicaux. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, y compris les plantes ligneuses et les herbes. Croire que n'importe quelle plante peut être guérie.

Plus de 80% des populations africaines utilisent des médicaments et des pharmacopées traditionnelles pour résoudre des problèmes de santé, et le continent africain dispose d'une gamme très diversifiée de plantes médicinales. En effet, parmi les 300.000 plantations recensées sur terre, plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont une valeur médicinale.

Dans les pays en développement dépourvus d'un système médical moderne, les plantes médicinales sont toujours la source de soins médicaux [4].

### **I.1.2. Définition de plante médicinale**

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques, cela signifie qu'au moins une de ses parties peut être employée dans le but de soigner.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, et qui présentent des effets thérapeutiques différents, exemples : l'absinthe (troubles de la digestion) ; le lin (constipation) [5].

### **I.1.3. Domaines d'application**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mises à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composées on retrouve, dans une grande mesure, les métabolites secondaire qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelle, ou des matières premières pour la semi-synthèse [6]. Ces produits sont utilisés en médecine conventionnelle en tant que médicaments pour l'homme : en urologie, dermatologie, toux, ulcères d'estomac, désordres nerveux et pour les systèmes cardiovasculaires .Quant aux maladies du stress, des activités antioxydants ont été prouvées avec le thé noir, le thé vert le cacao qui sont riches en composés phénolique.

En cosmétique, de nombreux produits de beauté, parfum et articles de toilettes et produits d'hygiène sont à base de plantes. Domaine de l'alimentation, les épices et les herbes aromatiques utilisées sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table, considéré comme condiment et aromates, la popularité des épices et herbes aromatiques a été reste très liée à leur propriétés organoleptiques.

### **I.1.4. Phytothérapie**

La phytothérapie est une branche de la médecine qui repose essentiellement sur les usages thérapeutique des plantes dites « médicinales ». Les herbes consommées sous différentes formes peuvent traiter ou soulager diverses maladies mineures .En plus des soins médicaux appropriés, ils sont également utilisés [7].

#### **I.1.4.1. Les avantages de la phytothérapie**

- ✓ Une médecine totalement naturelle ;
- ✓ Alternative aux médicaments « lourds » des laboratoires pharmaceutiques ;
- ✓ Peu d'effets secondaires
- ✓ Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car elles sont utilisées dans la fabrication des médicaments plus efficaces pour traiter des malades graves.

#### **I.1.4.2. Les inconvénients de la phytothérapie**

Certaines plantes peuvent s'avérer dangereuses (allant jusqu'à provoquer la mort) mais elles ne seront jamais prescrites, même à de faibles doses. Parmi les risques rencontrés face à face à cette discipline, on peut citer :

- ✓ Surdosage ;
- ✓ Allergie ;

- ✓ Contaminations par des toxiques divers (métaux lourds, micro-organismes) ;
- ✓ Interaction avec d'autres plantes ou traitement en particuliers allopathique ;
- ✓ Présence d'une substance allopathique dans la préparation ;
- ✓ Modification des doses absorbées [8].

## I.1.5. Modes de préparation des plantes médicinales

### I.1.5.1. L'infusion

L'infusion est le mode de préparation le plus simple et plus courant. Les vertus médicinales de la plupart des plantes sont contenues dans leurs huiles essentielles qui s'évaporent, pour cela pour réaliser l'infusion, il faut verser de l'eau chaude sur la drogue réduite en poudre ou fragmentée dans un récipient muni d'un couvercle, et de la laisser infuser 5 à 10 mn puis on filtre. L'infusion convient pour la plupart des drogues en feuilles, fleurs et tiges [2,5].



Figure I.1. Infusion

### I.1.5.2. La macération

Consiste à maintenir en contact de la drogue avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles [9].



Figure I.2. Macération

### I.1.5.3. La décoction

Pour extraire les principes actifs des racines, de l'écorce, des tiges et de baies, il faut généralement leur faire subir un traitement plus énergétique qu'aux feuilles ou aux fleurs. Une décoction consiste à faire bouillir dans de l'eau les plantes séchées ou fraîches, préalablement coupées en petits morceaux, puis à filtrer le liquide obtenu (le décocté). On peut la consommer chaude ou froide [9].



Figure I.3. Décoction.

### I.1.5.4. Poudre

Ils sont fabriqués par broyage de plantes séchées, ou leurs parties actives, à l'aide d'un moulin ou d'un mortier. Ces poudres peuvent être utilisées pour faire des extraits, préparer des capsules, diluer avec de l'eau ou mélanger avec de la nourriture. Ils peuvent être appliqués sur la peau comme du talc, ou mélangés à des teintures pour faire un pansement, mélangé avec de la pommade pour traiter les hémorroïdes et les varices [10].



Figure I.4. Poudre

### I.1.5.5. Sirops

Le miel et le sucre non raffiné sont des conservateurs efficaces qui peuvent être mélangés à des extraits de plantes (infusion, décoction et teintures) pour donner des sirops. Ils ont en outre des propriétés adoucissantes, ainsi la saveur sucrée des sirops permet de masquer le mauvais goût de certaines plantes, de manière à ce que les enfants les absorbent plus volontiers. Comme par exemple un sirop à base de citron et de fenouil [5,10].



Figure I.5. Sirop

### I.1.5.6. Crèmes

Les crèmes sont des émulsions préparées à l'aide de substances (l'huile graisses.) et de préparation des plantes (infusion, décoction, teinture, essences, poudres) [11].

Contrairement aux onguents, les crèmes pénètrent dans l'épiderme. Elles ont une action adoucissante, tout en laissant la peau respirer et transpirer naturellement. Cependant, elles se dégradent très rapidement et doivent donc être conservées à l'abri de la lumière, dans des pots hermétiques placés au réfrigérateur [12].



Figure I.6. Crèmes

## I.2. Investigation botanique et ethnopharmacologique des plantes étudiées

Les plantes étudiées ont été choisies en fonction de leur emploi très fréquent en Algérie en générale et à Saida en particulier.

### I.2.1. *Ruta Montana* L

La *Ruta* est communément appelée "fidjel" et est une plante annuelle de la famille des *Rutacées* qui a longtemps été utilisée à des fins de guérison et de cuisine. C'est une plante aromatique du pourtour méditerranéen [13]. Il vit à l'état spontané ou physique dans presque les régions arides de France, d'Europe du Sud et d'Afrique du Nord. En Algérie, il est plus fréquent dans les zones montagneuses [14], atteignant une hauteur de 1 m, fleurissant de mai à juin. La plante dégage une odeur très forte et désagréable et le goût de ses feuilles est très amer. La famille des *Rutacées* a été décrite pour la première fois par Durand en 1782 [15]. Il comprend près de 1500 espèces réparties en environ 150 genres (figure I.7).



Figure I.7. *Ruta Montana* L

#### I.2.1.1. Le nom commun de cette plante

- Arabe : Fidjel, Fidjela el djebeli
- Français : Rue des montagnes
- Anglais : Mountain Rue
- Espagnole : Ruda de muntanya, Rudamontesina
- Italien : *Ruta Montana*
- Allemand : Bergraute

### I.2.1.2. Classification systématiques

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Dialypétales

**Série :** Disciflores

**Sous série :** Diplostémone

**Famille :** Rutacées

**Sous famille :** Rutoidées

**Genre :** Ruta

**Espèce :** *Ruta Montana* L

### I.2.1.3. Description botanique

*Ruta Montana* appelée communément rue des montagnes est un arbrisseau de la famille des *Rutaceae*, du genre *Ruta*. C'est une plante méditerranéenne semi arbustive, de 40 cm à un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base [16,17].

#### a) La partie aérienne

- **Tiges :** Droites, cylindriques, très rameuses, glabres et glauques de 2 à 5 pieds de hauteurs.



**Figure I.8.**Tiges

- **Feuilles :** Pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovalesobtuses, épaisses, légèrement dentées sur les bords ou entières.



**Figure I.9.** Feuilles

- **Fruits** : Des capsules globuleuses à lobes arrondies et pédoncule court (4 mm) et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents ; libérant à maturité de petites graines noirâtres [17].



Figure I.10. Fruits

- **Graines**: Réniformes, à embryon renfermé dans un albumen charnu [17].
- **Odeur** : nauséabonde et saveur chaude et amère.
- **Fleurs** : Jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment dix étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal [17,18].



Figure I.12. Fleurs



Figure I.11. Graines

#### b) Partie souterraine

- **Racines** : Blanches, fibreuses et à nombreuses radicules [18].

•



Figure I.13. Racines

#### **I.2.1.4. Distributions géographique en Algérie**

La rue pousse spontanément dans les roches des régions arides, anciennes murailles, collines sèches, et riches en calcaire de la région méditerranéenne. Il existe dans les rocailles, les pâturages et les pelouses des montagnes depuis l'intérieur des terres jusqu'à l'Atlas du Sahara [19].

#### **I.2.1.5. Activité pharmacologique de *Ruta Montana* L**

*Ruta Montana* L. est utilisé comme médicament médicinal en Algérie, Poudre rougeur, antispasmodique, arythmie [20]. La fièvre chez les enfants est comme un médicament abortif, mais soyez très prudent car Effets toxiques dus à la présence de flavonoïdes [21].

L'huile essentielle de *Ruta Montana* L. a un potentiel et une activité antioxydants et un agent antibactérien [22].

#### **I.2.1.6. Utilisation de *Ruta Montana* L en médecine traditionnelle**

La *Ruta Montana* est une excellente plante à des fins curatives, les parties les plus couramment utilisées sont les feuilles et les racines. Cette plante est utilisée dans différentes préparations, à savoir décoction, infusion et trempage ; de plus, son huile essentielle a également une valeur médicinale. Une pincée pendant une semaine est la dose la plus recommandée pour éviter une éventuelle intoxication [23].

##### **a) Pour l'usage externe**

Comme emménagogue puissant pour les règles douloureuses, les accouchements difficiles et à doses fortes comme abortif et comme aphrodisiaque. Pour les affections respiratoire sévères, les gastralgies, les troubles intestinaux, les spasmes, la goutte, épilepsie, les trouble nerveux, la paralysie et comme vermifuge. En injection vaginales comme abortif, en lavements comme anthelminthique.

##### **b) Pour l'usage externe**

La décoction dans l'huile, en friction, soulage les rhumatismes, les courbatures et appliquée sur la peau a la réputation d'améliorer le vitiligo et le psoriasis L'infusion en collyre est employée contre les ulcérations de la cornée en gouttes auriculaires pour les otites et les bourdonnements d'oreille par voie nasale les gouttes traitent l'ozène. Ainsi que les fièvres et les vomissements du nourrisson et du jeune enfant.

### I.2.1.7. Composition chimique de *Ruta Montana*

La rue est une plante médicinale qui contient plus de 120 composés chimiques tels que les alcaloïdes, coumarines, huile essentielle, flavonoïde, glucides furoquinolines et un peu de tanins repartis sur différentes parties de la plante (les racines, les feuilles et les fleurs), beaucoup de ces composés à une activité biologique, par exemple l'huile essentielle à effet répulsif des insectes et les alcaloïdes, coumarines à des propriétés bactéricide [23].

### I.2.1.8. La toxicité de *Ruta Montana* L

La furanocoumarine et les huiles essentielles de *Ruta Montana* peuvent provoquer des maladies graves. La furanocoumarine (psoralène) est phototoxique. Ils provoquent une dermatite aiguë semblable à des brûlures au premier ou au deuxième degré en touchant les feuilles blessées puis en étant exposés au soleil. Deuxièmement, la peau conservera une hyperpigmentation, qui durera longtemps. Cette réaction phototoxique est exacerbée par l'humidité [25]. Ce qui est plus grave, c'est qu'après digestion et absorption, ces coumarines sont toxiques pour les reins et le foie, voire cancérogènes, car elles modifient les acides nucléiques et endommagent le génome [24].

Les huiles essentielles peuvent provoquer une contraction des muscles utérins et des saignements utérins. Les signes d'intoxication de rue commencent par des maladies du système digestif (douleurs, vomissements, salivation excessive), suivis de signes de choc (hypotension, problèmes cardiaques) et même de convulsions. Dans le même temps, des saignements génitaux peuvent être observés. Par la suite, selon la gravité de l'empoisonnement, une insuffisance rénale et hépatique peut survenir, entraînant la mort. Il n'existe pas d'antidote aux intoxications de rue (*Ruta montana*, *Ruta Gravelons* ou *Ruta chalepensis*) [24].

L'empoisonnement par la rue est en général volontaire pour provoquer un avortement. Il faut rappeler que l'avortement est le plus souvent interdit en Amérique du sud.. Les femmes enceintes doivent éviter de consommer des extraits de rue même en petite quantité car des études sur l'animal ont montré que des extraits de rue provoquent des malformations fœtales.



Figure I.14. Toxicité

### I.2.2. *Pistacia lentiscus L*

Le lentisque, ou Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L.*), est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille des Anacardiaceae qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (figure I.15).



Figure I .15. *Pistacia lentiscus L*

#### I.2.2.1. Noms de la plante

*Pistacia lentiscus L*, Pistachier lentisque, Lentisque, Arbre au mastic .On l'appelle aussi arbre à mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée. Le nom pistachier vient du grec *Pistake*. Le nom lentisque vient du latin *lentus* (visqueux). Pistacial entiscus synonyme : *Lentiscus vulgariscupani*.

- Nom en **espagnol** : Lentisco, Charneca
- Nom en **France** : Arbre au mastic, Pistachier lenstique
- Nom en **Anglais** : Mastic Tree, Lentiskn Cyprus lentisque
- Nom en **Algérie** : Darou
- Nom en **Algérie** (Kabyle) : Amadagh.

#### I.2.2.2. Classification systématiques

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* [26].

- **Règne** : Végétal
- **Embranchement** Spermaphytes
- **Sous embranchement** : Angiosperme
- **Classe** : Eudicots ou Magnoliopsida
- **Sous classe** : Dialypétales
- **Ordre** : Sapindales
- **Famille** : Anacardiaceae
- **Genre** : *Pistacia*
- **Espèce** : *Pistacia lentiscus L.*

### I.2.2.3. Description botanique

*Pistacia lentiscus L.* est un arbrisseau de 1 à 3 m de hauteur, sclérophylle, qui se comporte comme une espèce thermophile, se développant dans des secteurs chauds à basses altitudes et dans les abrités et ensoleillés à altitudes moyennes (figure I.15).

- **Les feuilles :** sont persistantes, paripennées, à 4 à 10 folioles elliptiques, coriaces et luisantes et le pétiole est nettement ailé. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai [26].



**Figure I.16.** Feuilles

- **Le fruit :** est petit et globuleux ,c'est une drupe rouge, puis noire à maturité, en novembre, comestible, arrondie, d'environ, cinq millimètres qui referment un seul noyau à une seule graine les fruits du pistachier lentisque sont utilisés pour l'extraction d'une huile très recherchée comme médicament contre diverses maladies et utilisés dans le traitement de la gale, des rhumatismes et de diarrhée [6].



**Figure I.17.** Fruits

- **L'écorce :** rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.



**Figure I.18.** L'écorce

➤ **Le résine ou « mastic »** est obtenu, en été, par l'incision répétée des tiges. La production peut, de cette façon, atteindre 4 à 5 kg par arbre de couleur jaune clair, irritante, ce produit résineux transparent émet une odeur balsamique relativement forte [27,28].



**Figure I.19.** Mastic

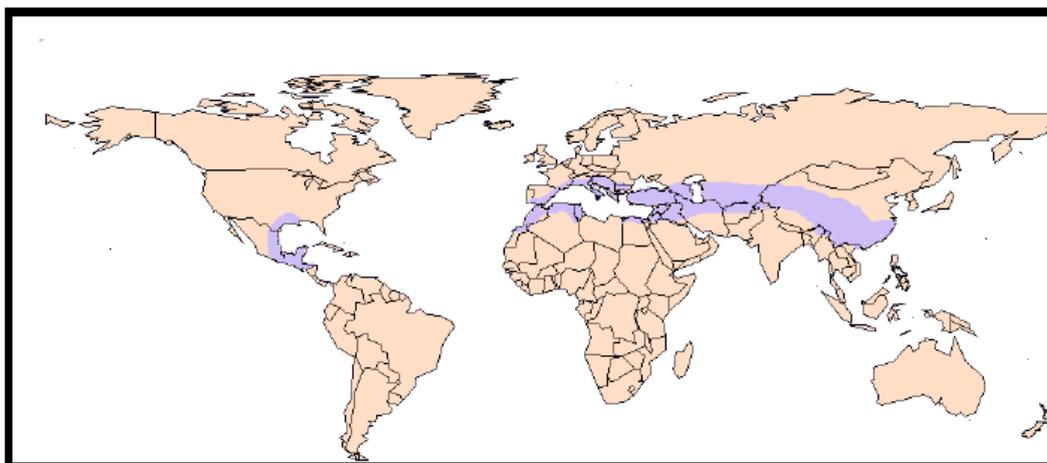
➤ **Les branches :** Tortueuses et pressées, forment une masse serrée.



**Figure I.20.** Branches

#### I.2.2.4. Aires de répartition

Le pistachier lentisque est très commun dans le bassin méditerranéen, il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux.



**Figure I.21.** La répartition géographique de lentisque dans le monde



Figure I.22. La répartition géographique de lentisque sur la mer méditerranéenne

### I.2.2.5. Utilisation du Lentisque en médecine et en pharmacologie

Les intérêts du lentisque sont nombreux, il est exploité pour la résine qu'il secrète dans ses tiges, ses feuilles, son bois et ses fruits pour des usages alimentaires, domestique ou médicaux. En médecine, le mastic est utilisé comme anti diarrhéique pour les enfants, antiscorbutique ainsi que sous forme de cataplasme ou pour faire des fumigations et pour le traitement dentaire pour sous l'occlusion des dents cariées. La margarine de ses fruits est efficace pour chasser les gaz de l'hémoglobine.

Les feuilles sont utilisées comme anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, hépato protective, expectorante et cicatrisant [29].

Egalement, les fruits murs du lentisque sont très efficaces pour le traitement des maladies de l'estomac et les infections respiratoires [30].

La gomme est utilisée pour la fabrication des parfums et l'huile essentielle est utilisée dans la fabrication du savon et la préparation des produits de beauté. Tandis que l'huile embaumée est utilisée à l'éclairage.

### I.2.2.6. Composition chimique

Chez l'espèce *Pistacia lentiscus* les métabolites secondaires les plus connues sont les terpénoïdes, les stérols, les composés phénoliques et leurs dérivés.

- a) **Les terpénoïdes** : Les feuilles, les fruits, les fleurs et la résine du Lentisque sont riche en huile essentielle comme :  $\alpha$ -pinène ; limonène ;  $\beta$ -pinène et  $\beta$ -myrcène [31].
- b) **Les stérols** : L'huile fixe de *P. lentiscus* est caractérisée par la présence de 4 phytostérols majoritaires qui sont le  $\beta$ -sitostérol, le campestérol, le cholestérol et le stigmastérol [32].

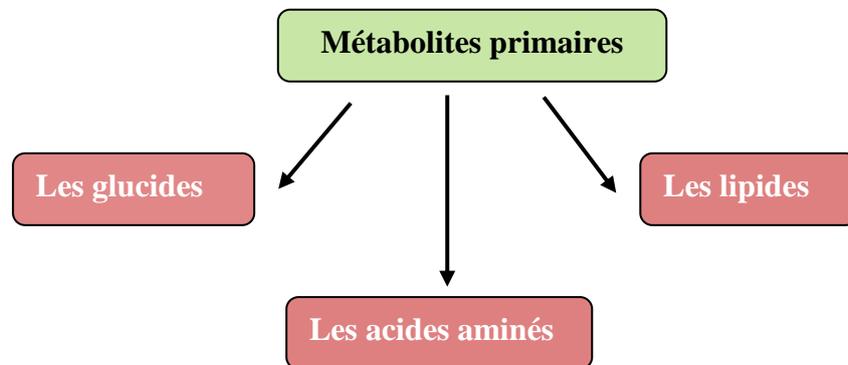
- c) **Les composés phénoliques** : Les feuilles de *P. lentiscus* sont caractérisées par leurs richesses en composés phénoliques. Elles contiennent entre 5 à 7% de gallo tannins à savoir les dérivés gallolyle Tels que les acides mono, di, et tri-O-gallolyle quinique et l'acide gallique [33].
- d) **Les alcaloïdes** : Ils sont présents dans les fruits et absents dans les feuilles et les tiges [34].

Il existe deux voies de métabolisme chez les végétaux : les métabolites primaires, et les métabolites secondaires.

### II.1. Métabolites primaires

Les molécules constitutives ou permanentes sont directement impliquées dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule, c'est à dire indispensables à la survie de la cellule.

- ❖ Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire,
- ❖ Les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires,
- ❖ Les acides aminés, source primaire de construction des protéines.

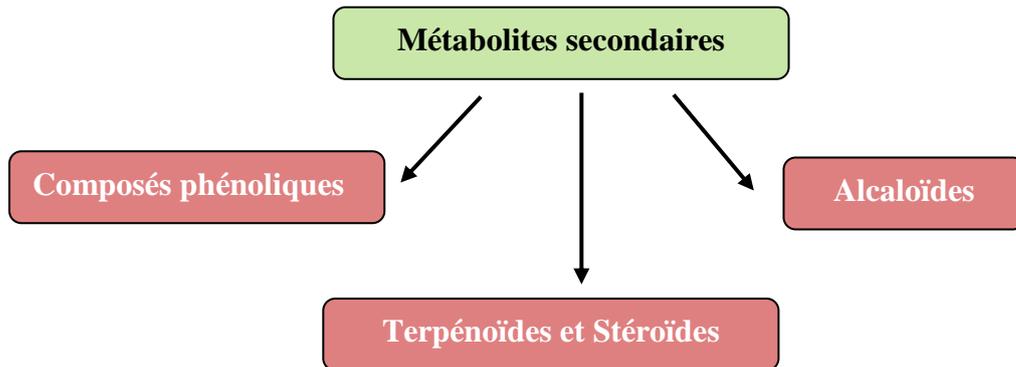


### II.2. Métabolites secondaires

Représentent toute substance présentes chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante par opposition aux métabolites primaires et dont la nature et la teneur peuvent être modifiées par des facteurs abiotiques, facteurs environnementaux spatiaux (exposition, altitude, climat, ...) ou temporels (saison, âge, ...), et les molécules induites par des facteurs abiotiques, telles les phytoalexines excitées par la présence d'un pathogène. Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent des dizaines de milliers de molécules différentes classées en familles chimiques telles que les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes etc. Outre leur très grande diversité chimique, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes spécialisés.

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

- ❖ Les composés phénoliques,
- ❖ Les composés terpénoïdes et stéroïdes,
- ❖ Les alcaloïdes.



## II.2.1. Les composés phénoliques

### II.2.1.1. Généralités

Les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus [35]. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% [36].

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV [37].

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques, les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les anthocyanes, coumarines [38].

### II.2.1.2. Classe des polyphénols

#### II.2.1.2.1. Les acides phénoliques

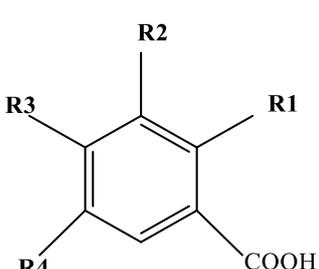
Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En photochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique.

##### a) Les acides hydro benzoïques

Ils sont dérivés par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>

Tableau II.1 : Exemples des acides hydro benzoïques [39].

| Acides hydrox benzoïques         |    |                  |    |                  |
|----------------------------------|----|------------------|----|------------------|
|                                  | R1 | R2               | R3 | R4               |
| Acide benzoïque (non phénolique) | H  | H                | H  | H                |
| Acide <i>p</i> -hydrox benzoïque | H  | H                | OH | H                |
| Acide protocatéchique            | H  | OH               | OH | H                |
| Acide vinylique                  | H  | OCH <sub>3</sub> | OH | H                |
| Acide gallique                   | H  | OH               | OH | OH               |
| Acide syringique                 | H  | OCH <sub>3</sub> | OH | OCH <sub>3</sub> |
| Acide salicylique                | OH | H                | H  | H                |
| Acide gentisique                 | OH | H                | H  | OH               |

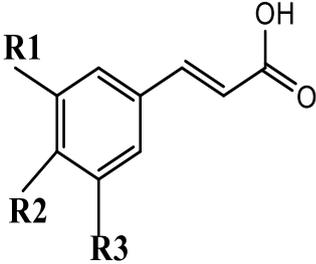


##### b) Les acides hydrox cinnamiques

Les acides hydrox cinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydrox cinnamique sont l'acide *p*-coumariques (et ses isomères *o*- et *m*-coumariques) et les acides caféique, férulique et sinapique (tableau II.2)

**Tableau II.2 :** Les principaux acides hydrox cinnamique.

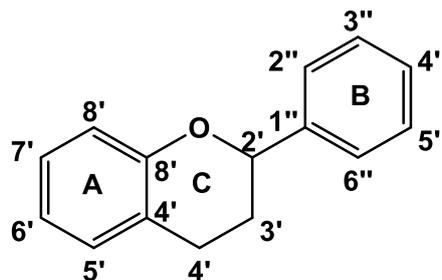
| Acides hydro cinnamiques    |                  |                  |                  |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                             | R1               | R2               | R3               |
| Acide cinnamique            | H                | H                | H                |
| Acide <i>p</i> -coumariques | H                | OH               | H                |
| Acide caféique              | OH               | OH               | H                |
| Acide férulique             | OCH <sub>3</sub> | OH               | H                |
| Acide sinapique             | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> |
| E-anéthol                   | H                | OCH <sub>3</sub> | H                |



### II.2.1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal [40], qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols.

Actuellement, plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, Méthoxy, méthyle, benzyle et isoprényle [41].

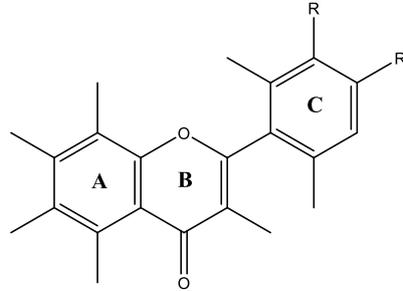


**Figure II.1.** Structure générale des flavonoïdes.

**A) Classification**

❖ **Flavones [42,43]**

Dans cette famille, on peut citer l'apigénine et la lutéoline, qui sont largement répandus chez les angiospermes. Par contre, chez les herbes, la tricéine est peu répandue.

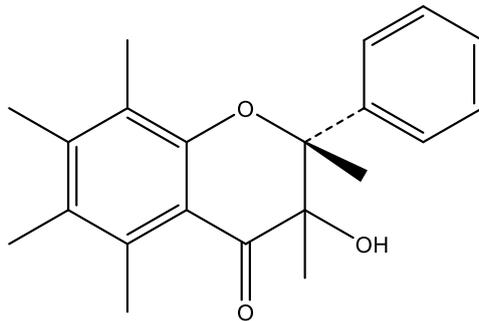


**Flavones**

**Figure II.2.** Structure des flavones.

❖ **Les flavonols**

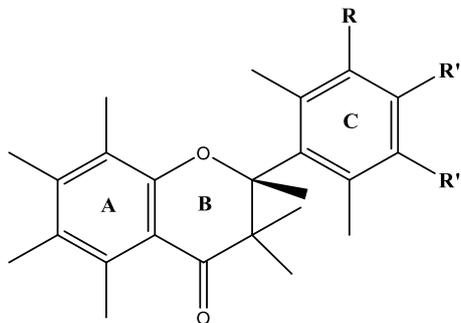
Elles se différencient des flavones par l'existence d'un hydroxyle en position 3, qui n'est pas un OH phénolique. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus.



**Figure II.3.** Structure de flavonols

❖ **Les flavanones**

Ce sont des dérivés des flavones. Ces composés possèdent un carbone asymétrique (C2). Il existera donc 2 isomères optiques pour chaque composé.

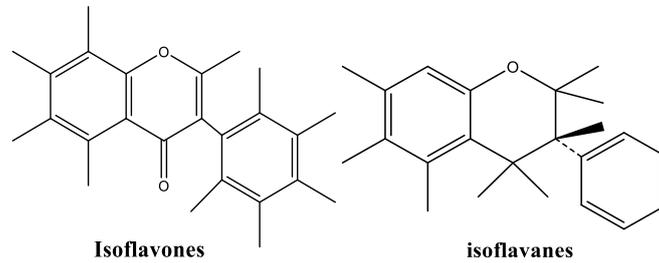


**Flavanones**

**Figure II.4.** Structure des flavanones.

❖ **Les isoflavones**

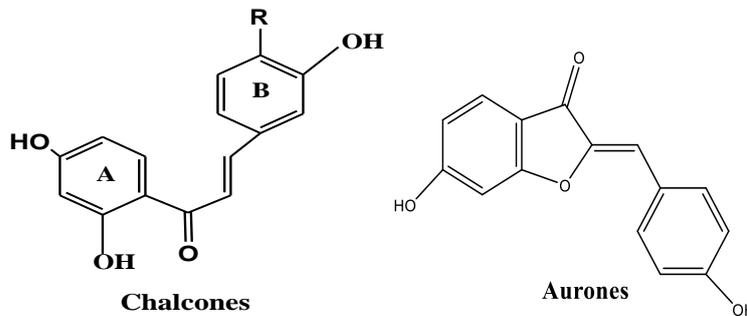
Les isoflavones sont des isomères des flavones. Le noyau benzénique latéral est fixé en position 3 et non pas en position 2.



**Figure II.5.** Structure des isoflavone.

❖ **Les chalcones et les aurones**

Les chalcones se diffèrent des structures précédentes par l'existence d'un chaînon tri-carboné, cétonique  $\alpha, \beta$ -insaturé au lieu de l'hétérocycle oxygéné qui relie les deux cycles benzéniques



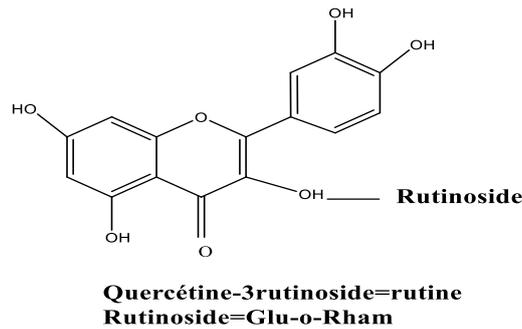
**Figure II.6.** Structure des chalcones et des aurones.

❖ **Hétérosides flavoniques**

La majorité des flavonoïdes existe dans la nature sous forme hétérosidique. Les sucres qui interviennent dans la structure des hétérosides phénoliques sont surtout des aldoses. Le D-glucose est le glucide le plus fréquent, on trouve également le D-galactose, D-xylose, L-rhamnose, L-arabinose et un dérivé du glucose, l'acide D-glucuronique.

La forme cyclique des glucides est une forme pyranosique. La liaison osidique est de type  $\beta$ , se fait entre le carbone 1 du glucide et l'atome d'oxygène de l'aglycone (O-hétéroside).

La liaison entre la génine et le sucre peut se faire par l'un des hydroxyles phénoliques de la génine et surtout l'hydroxyle en 7 des flavones et en 3 des flavonols.



**Figure II.7.** Structure des hétérosides flavonique.

Il existe également des composés C-hétéroside (C- glycosylflavonoïdes) où la liaison s'établit entre le carbone anomérique du sucre (glucose, galactose ou pentose) et le carbone en 6 ou en 8 de la génine.

### B) Application des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans presque tous les organes de la plante et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants. Ces métabolites secondaires sont connus pour leurs diverses propriétés biologiques telles que antioxydants, anti-inflammatoire, antithermique, antibactérienne, anti hépatotoxique, anti tumorale, anti-hypertensive, antivirale et antiallergique [44]. Récemment, l'activité oestrogénique de certaines isoflavones a été mise en évidence [45].

A côté de la vitamine C (acide ascorbique) découverte en 1936, A. Szent-Gyorgi a pu démontrer, en 1937, que les agrumes renfermaient un autre facteur responsable de la résistance capillaire, la citrine. Elle fut isolée de l'écorce de citron et dénommée vitamine P ou vitamine de perméabilité.

Le genre *Ruta*, genre type des *Rutacées*, a donné son nom au flavonoïde rutine (quercétine 3-rutinoside) qui fut isolé de l'espèce *Zanthoxylum piperitum* et qui est utilisé actuellement en thérapeutique pour renforcer la résistance capillaire seule ou en association avec d'autres flavonoïdes [46].

### C) Propriétés physico-chimiques

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif. Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool, les solvants organiques et insolubles dans les solvants organiques apolaires; les génies sont peu solubles dans l'eau et l'éther. Les flavonoïdes sont aussi solubles dans la solution alcaline (ammoniacque et potasse) en donnant une coloration jaune qui

disparaît par addition d'acide. Ils possèdent un spectre d'absorption dans l'ultra violet avec généralement deux maximums caractéristiques variant

Avec chaque type flavonique [47,48].

#### D) Intérêts pharmacologiques des flavonoïdes [49,50]

Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leur action se situe au niveau des petites veines ou des capillaires actions vitaminique p. Ce sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires.

L'administration de 25-100mg/kg d'acacétine réduit la fragilité des capillaires. Quant au flavones, ils possèdent une action de dilatation de coronaires. Ainsi, il a été prouvé que les anthocyanines ont une activité anticancéreuse, réduisant la fatigue oculaire, contrôlent le diabète, améliorent la circulation sanguine.

##### II.2.1.2.3. Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits [51], Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les Anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényle-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum.

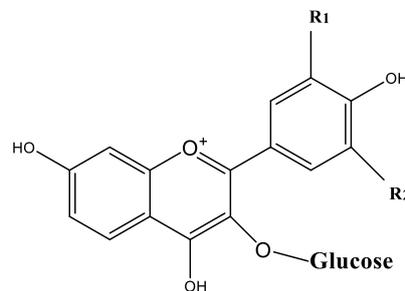


Figure II.8. Structures générales des anthocyanosides.

#### a) Action pharmacologique et emplois

L'action pharmacologique des anthocyanes est en général, limitée au domaine vasculaire. Elles augmentent, comme tous les flavonoïdes, la solidité des capillaires. Elles inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation. Elles sont proposées en ophtalmologie en cas de troubles oculaires et pour l'amélioration de la vision crépusculaire. Elles sont peu utilisées dans l'industrie alimentaire et cosmétique, et ceci du fait de leur instabilité vis-à-vis des facteurs physico-chimiques incontournables (lumière, température et pH), ainsi que par leur sensibilité aux sulfites (souvent utilisés comme conservateurs) et aux métaux (présents dans les boîtes de conserves) [43].

#### II.2.1.2.4. Tanins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles [52]. Ce sont des composés phénoliques ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da et qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Sur le plan structural, on distingue les tanins hydrolysables, esters d'acide phénolique, des tanins condensés plutôt des polymères de polyhydroxyflavan-3-ol [53].

##### a) Structure et classification

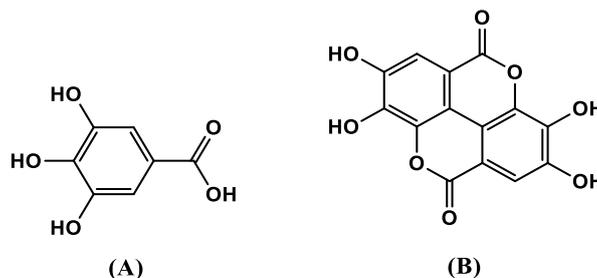
On distingue deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition [54].

##### ❖ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'un sucre (majoritairement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols qui sont considérés comme des non flavonoïdes (éllagitanine, gallo tanins) [55]. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude [55].

Selon la nature des tanins hydrolysables on distingue :

- ✚ **Tanins galliques** : ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.
- ✚ **Tanins ellagiques** : ils sont scindés par les enzymes en oses et en acides ellagiques [56].



**Figure II.9.** Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).

##### ❖ Les tanins condensés (pro-anthocyanidines)

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ol, dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux [56].

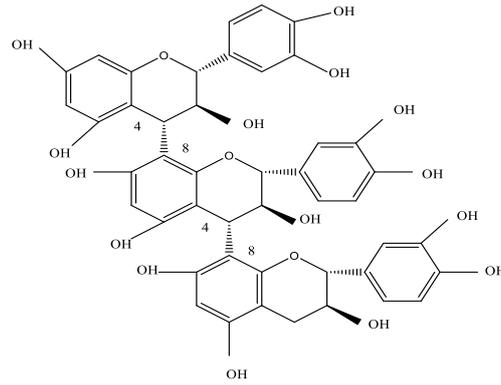


Figure II.10. Structure des tanins condensés.

### ❖ Les tanins complexes

Sont à la fois des tanins hydrolysables et des tanins condensés. Dans ce cas le tanin hydrolysable qui peut être gallique ou ellagique est lié à une ou plusieurs unités Flavon-3-ol qui sont caractéristiques de tanins condensés [57].

### b) Utilisation des tanins

❖ **En pharmacie** : Grâce à leurs propriétés astringentes les tanins sont utilisés Comme anti diarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme Protectors veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes [58].

❖ **Dans l'industrie** : Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans Celle des vernis et peintures [58].

#### II.2.1.2.5. Les coumarines

Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques constituées de neuf atomes de carbone caractérisées par le noyau 2H-1- benzopyrane-2-one (figure II.11). Les coumarines, très largement distribuées dans le règne végétal, ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, su peroxydes et pyroxyles [59].

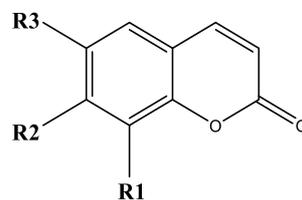


Figure II.11. Structure général des coumarines.

**Tableau II.3 :** Les principaux types de coumarines.

| Composé                  | R1               | R2               | R3 |
|--------------------------|------------------|------------------|----|
| Coumarine non phénolique | H                | H                | H  |
| Ombelliféracée           | H                | OH               | H  |
| Herniarine               | H                | OCH <sub>3</sub> | H  |
| Esculétol                | OH               | OH               | H  |
| Scopolétol               | OCH <sub>3</sub> | OH               | H  |
| Scopanone                | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | H  |
| Fracxétol                | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OH |

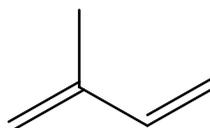
**a) Propriétés physico-chimiques**

Les coumarines libres sont solubles dans les solvants organiques et dans les alcools. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau [43]. Les atomes d'oxygène des hétérocycles des furanocoumarine et la présence de résidus hydrophiles plus ou moins nombreux leur assurent une certaine solubilité dans des solvants aqueux. La structure aromatique des furocoumarines leur confère de fortes absorbances dans les longueurs d'ondes UV, avec des spectres relativement spécifiques

**II.2.1.2.6. Les composés terpéniques**

**a) Les Terpènes**

Ce sont des molécules hydrocarbonées produites particulièrement au niveau des organes foliaires. Les différentes voies métaboliques dont ils sont issus sont la glycolyse, le cycle de Krebs et la voie du shikimate, ainsi que la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) [60]. L'unité de base des terpènes est l'isoprène en cinq carbones (figure II.12).



**Figure II.12.** Structure générale d'isoprène.

Les terpénoïdes ont des activités biologiques et pharmacologiques variées : anti-inflammatoire, antivirus, analgésiques, antibactériennes et [61,62].

Selon le nombre d'entités isopréniques les terpènes sont classés en :

- Mono terpène à 10 atomes de carbones 2 unités,
- Sesquiterpène à 15 atomes de carbones 3 unités,
- Di-terpène à 20 atomes de carbones 4 unités,
- Tri-tétra à 30, 40 atomes de carbones 6,8 unités,
- Poly-terpène à > 40 atomes de carbone > 8 unités et etc. ...

### II.2.1.2.7. Les saponosides

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensioactifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom «saponine» est dérivé du mot latin sapos, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante.

#### a) Structures et classification

Les saponosides peuvent être classés en deux groupes en fonction de la nature de leur squelette aglycone.

##### ➤ Saponosides à génines stéroïdique

Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones (Alliaceae, Agavaceae, Fabaceae, Solanaceae, Plantaginaceae) possèdent un squelette de 24-29 atomes de carbone de type pentacyclique furostane (H) ou de type hexacyclique : spirostane (figure II.13). Ces saponosides ont généralement un hydroxyle en position 3. Ce dernier est le plus souvent substitué par une chaîne osidique.

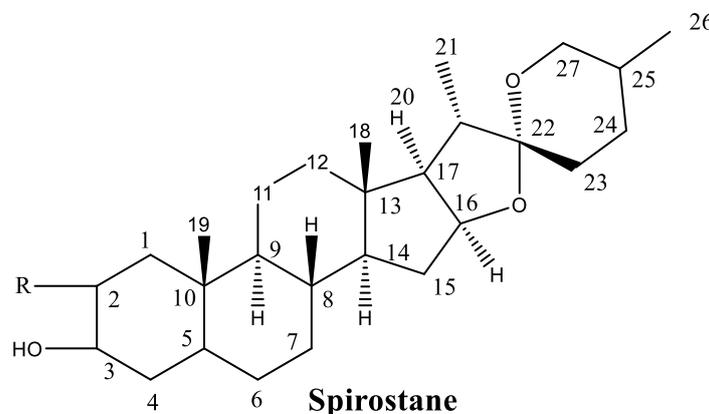


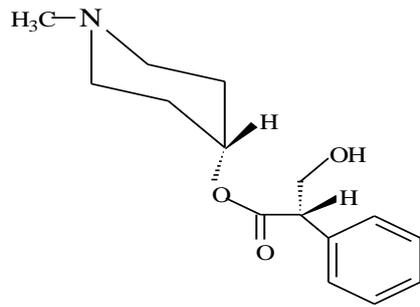
Figure II.13. Structure de spirostane.



Les alcaloïdes existent sous forme de sel (malates, méconates, isobutyrate ... ) et sous forme d'une combinaison avec les tanins [63].

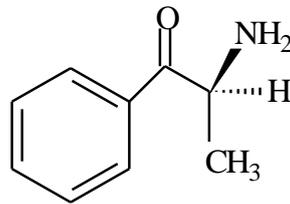
**a) Classes d'alcaloïdes :**

- **Alcaloïdes vrais:** ils se caractérisent par une importante cytotoxicité, expose une vaste activité physiologique, la plupart sont des bases stables, elle comporte un ou plusieurs atomes d'azotes dans le cycle.



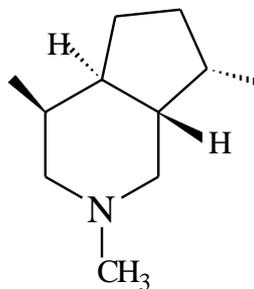
(-) Hyoscyamine

- **Protoalcaloïdes:** se sont des amines simples comme les acides aminés et d'autres alcaloïdes.

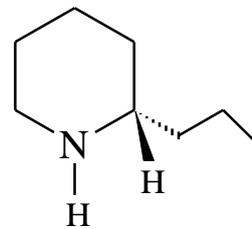


(-)-cathionone

- **Pseudo alcaloïdes:** regroupe les composés azotés, non dérivés des acides aminés. L'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale.



$\beta$ -Skytantine



(+)-Coniine

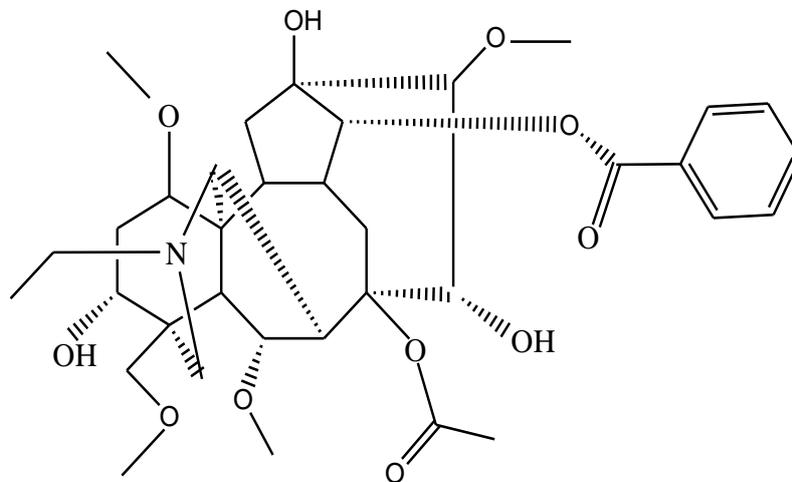
### b) Action pharmacologique et emplois

Les alcaloïdes sont des substances très intéressantes par leurs activités pharmacologiques des plus variées :

- Sur le système nerveux central comme anti-dépresseurs : codéine, morphine.
- Sur le système nerveux autonome excitant du sympathique : hordéine, éphédrine
- Sur les vaisseaux hypertenseurs : hydrastine
- Sur la circulation sanguine : vincamine.

Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur. Il est à noter que les alcaloïdes jouent, à faibles doses, le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'analgésiques (morphine), d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludiques (quinine), d'anti-tumoraux (vinblastine), d'amoebicides (émétine)...

**Exemple :** Aconitine : dose unitaire 0,2 mg et la dose mortelle 1mg [43].



**Figure II.15.** Structure de l'Aconitine (C<sub>34</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>11</sub>).

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### III.1. Matériel végétal

Le matériel végétal de notre étude est constitué des parties aériennes : feuilles, tiges, rameaux et graines d'une part et d'autre part une partie souterraine les racines de deux plantes médicinales : *Ruta Montana* et *Pistacia lentiscus* L (figure III.1 et figure III.2).



Figure III.1. *Ruta Montana* L



Figure III.2. Photode *Pistacia lentiscus* L

### III.2. Récolte de nos plantes

Les deux plantes ont été récoltées localement au niveau de la région nommée Hounet t dans la période Mars-avril 2021 à Saida (figure III.3). Les échantillons ont été séchés au laboratoire à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Leur identification botanique a été confirmée par le Pr Terras Mohammed, botaniste au département de biologie (université de Saida). Afin d'éviter un problème éventuel d'hybridation de la plante avec une autre espèce.

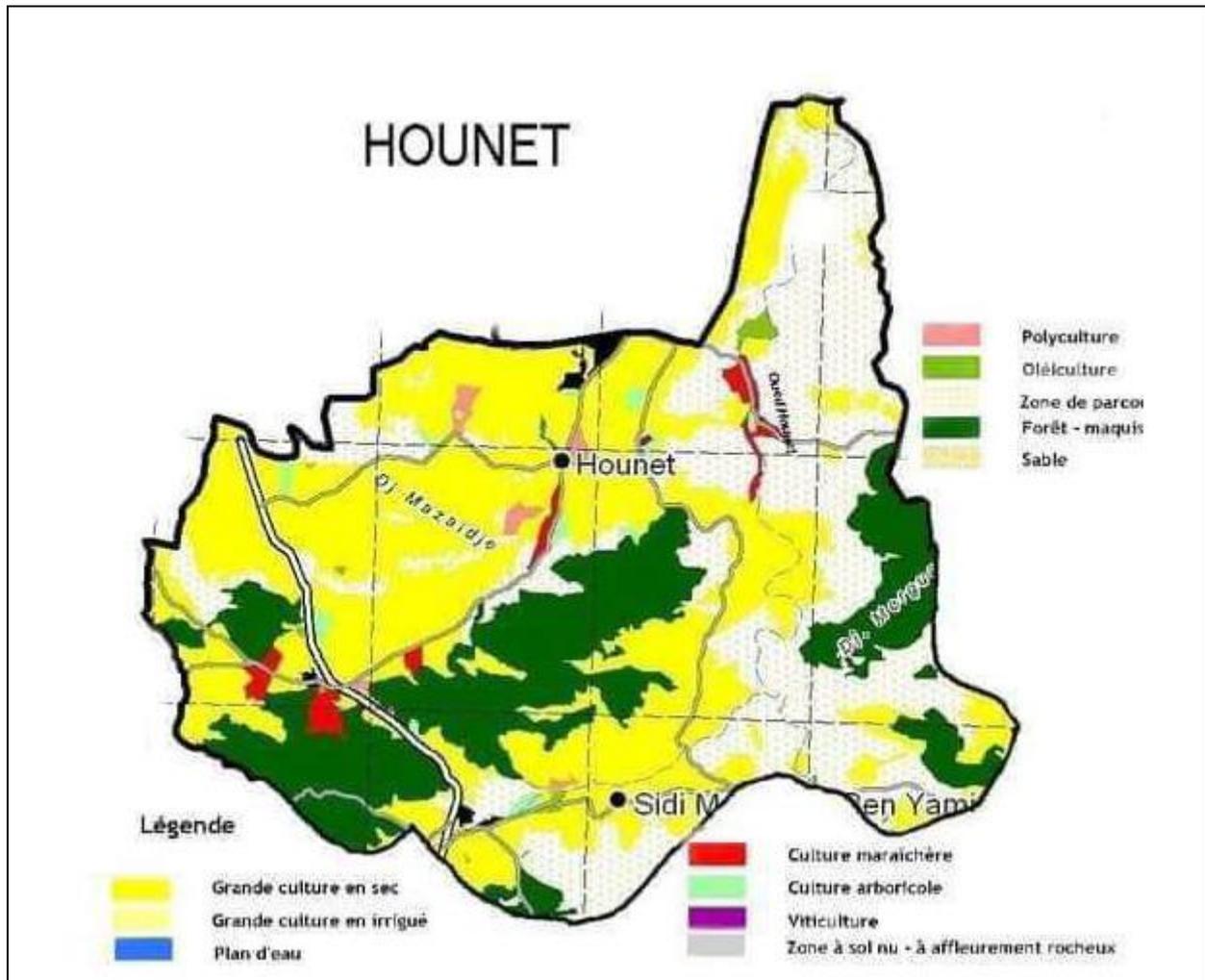


Figure III.3. La carte géographique des endroits de la récolte de nos plantes.

Tableau III.1 : Caractéristiques géographiques et bioclimatiques d'Hounet, wilaya de Saida.

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Coordonnées géographiques</b> | Latitude : 35.1163<br>Longitude : 0.1283935°6' 59 "Nord, 0° 7' 42" Est |
| <b>Altitude(en m)</b>            | 507  |
| <b>Climat d'Hounet</b>           | Climat semi-aride et froid   |

### III.3. Préparation et conservation du matériel végétal

Les plantes récoltées ont été nettoyées, lavées avec de l'eau de robinet ensuite par l'eau distillée, séchées à une température ambiante à l'ombre, afin de préserver le maximum de l'intégrité des molécules ciblées par notre étude en minimisant les divers mécanismes de fermentation et de dégradation inhérents au caractère organique de cette matière première. Une fois l'opération de séchage est terminée, les parties destinées particulièrement les feuilles, les grains, les rameaux, les tiges et les racines ont été séparées, ensuite pesées, broyées grossièrement et conservées dans des flacons en verre en vue de procéder aux différents tests.

### III.4. Détermination de la teneur en eau (humidité)

#### III.4.1. Principe

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'un échantillon de 2g dans une étuve isotherme à une température de  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesure [64].

**III.4.2. Matériels :** Balance analytique de précision, Etuve réglée à  $103^{\circ}\text{C}$ , pince, spatule métallique, capsule en verre et Dessiccateur.

#### III.4.3. Technique suivie

Nous avons opéré sur des échantillons homogènes, broyés et concassés.

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Laisser refroidir dans un dessiccateur renfermant le chlorure de calcium (desséchant).
- Peser dans chaque capsule préalablement tarée 1 à 2g d'échantillon et les placer dans l'étuve réglée à  $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 3 heures.
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans le dessiccateur.
- Peser les capsules après refroidissement. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn).

### III.4.4. Expression des résultats

La teneur en eau des échantillons est calculée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{M1-M2}{P} \times 100$$

**Avec :**

**H %:** teneur en eau ou humidité.

**M<sub>1</sub>:** la masse initiale (g) : masse de la drogue d'essai +capsule avant étuvage

**M<sub>2</sub>:** la masse finale en g : masse de la drogue d'essai+capsule après étuvage.

**P :** la masse de la prise d'essai en g.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$$\text{Matière sèche (MS) \%} = 100 - H \%$$

### III.5. Détermination du pH

#### III.5.1. Mode opératoire

Détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans une solution aqueuse des feuilles, des grains, des rameaux, des tiges et des racines broyées par un rapport 1/5 (masse de prise d'essai en g /volume d'eau en ml) [65]. La mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre.

### III.6. Protocoles d'extraction des métabolites secondaires [66]

Les extraits obtenus à partir de poudres ont été préparés selon les procédés classiques de préparation d'extraits utilisés en milieu villageois que sont l'infusion, la décoction et la macération. Au cours de travail, trois solvants de polarité différente (eau, éther diéthylique, éthanol) sont utilisés pour l'extraction des différentes familles de composés chimiques.

### III.6.1. Extraction par infusion

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100mL d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

### III.6.2. Extraction par décoction

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

### III.6.3. Extraction par macération

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100mL de solvant (eau distillée ou ETOH). L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

### III.6.4. Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant le transfert du filtrat à évaporer) [66].

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

### III.7. Extraction de l'huile essentielle

#### III.7.1. Extraction par hydro-distillation

L'extraction d'huile essentielle (HE) s'est déroulée au niveau de laboratoire de biologie, Faculté des sciences. L'extraction a été effectuée selon la méthode de l'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (figure III.4). Une quantité de 100 g des feuilles fraîches de la plante Pistachier lentisque a été introduite dans un ballon de 2 litres et recouverte de 1 L d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3h.



**Figure III.4.** Montage d'hydrodistillation.

Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers un réfrigérant, se condensent et chute dans un erlenmeyer. La décantation se fait à travers une ampoule à décanter, l'huile et l'eau se sépare par différence de densité.

#### III.7.2. Evaluation du rendement en Huile Essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue par extraction et la masse totale du matériel végétal traité[66]. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100 \%$$

- **R(%)** : Rendement en huile essentielle.
- **M<sub>HE</sub>** : Masse d'huile essentielle obtenue (en g).
- **M<sub>s</sub>** : Masse de la matière fraîche (en g).

### III.8. Tests phytochimiques ou Screening phytochimique [66]

De nos jours, la découverte de ressources naturelles du monde végétal reste capitale dans la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. Ces composés chimiques sont déterminés par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes catégories de molécules existantes dans la plante et qui peuvent servir, non seulement à obtenir des principes actifs utilisés comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matériaux économiques ; telle que les alcaloïdes, les huiles essentielles.

Les testes ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïde, tanins, flavonoïdes, saponines,...) par des réactions en tubes et les résultats sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et/ ou de précipitation en utilisant réactifs de caractérisations.

Les résultats ont été évalués comme suit :

+++ : Fortement positif                      ++ : Moyennement positif  
+ : Faiblement positif                      - : Négatif

#### III.8.1. Mise en évidence d'Amidon

Traiter 5 ml de la solution préparée avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon.

#### III.8.2. Mise en évidence des saponosides

Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse un peu d'eau et ensuite agiter d'une manière forte. Une écume persistante confirme la présence des saponosides. Abandonner le mélange pendant 20 mn et classifier la teneur en saponosides:

- Pas de mousse = Test négatif
- Mousse moins de 1cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2cm = test positif
- Mousse plus de 2cm = test très positif

### III.8.3. Protocole d'identification des anthraquinones

Bouillir 1g d'échantillon de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 ml de KOH 0,5 N auxquelles est ajoutée 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dilué à 5 %. Refroidir le mélange, filtrer puis acidifier le filtrat avec l'acide acétique. Extraire la solution acide obtenue avec 10 ml de benzène. Agiter l'extrait benzénique en présence de 5 ml de NH<sub>4</sub>OH. Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

### III.8.4. Mise en évidence des Tanins :

A 2 ml de la solution à tester ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes).

### III.8.5. Mise en évidence des Flavonoïdes :

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange.

### III.8.6. Protocole d'identification des Alcaloïdes

Deux essais ont été réalisés :

\* Evaporer 20 ml de la solution éthanolique. Ajouter 5 ml d'HCl 10% au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes d'une solution de NH<sub>4</sub>OH 10% jusqu'à pH 9. Extraire la solution avec l'éther diéthylique ensuite concentrer à sec. Dissoudre le résidu dans du HCl 2%. Caractériser les alcaloïdes avec les réactifs de **Mayer** et de **Wagner**.

\* Evaporer 20 ml de la solution éthanolique à sec. Ajouter 5 ml d'HCl 2N au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales. Traiter la première avec quelques gouttes du réactif de **Mayer** et la seconde avec le réactif de **Wagner**.

**Observation :** Présence de turbidité ou précipitation.

- (+) est enregistré si le réactif produit une légère opacité.
- (++) est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation.
- (+++) est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

### III.8.7. Protocole d'identification des composés réducteurs

Deux essais ont été réalisés :

- Traiter 1 ml de l'extrait éthanoïque avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de **Fehling** puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge - brique.
- Traiter 1 ml de l'extrait éthanoïque avec le réactif de Keller Kiliani. Un test positif est révélé par la formation d'un anneau brun - rouge et la solution acétique se colore lentement en bleu - vert.

Pour les anthracénosides, coumarines et anthocyanosides nous avons procédé par les étapes suivantes :

En premier lieu, prendre 25 ml de l'extrait éthanolique en présence de 15 ml de HCl 10%, porter à reflux pendant 30 mn. Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 ml d'éther. Traiter les deux phases séparément.

### III.8.8. Protocole d'identification des Anthracénosides

Traiter 8 ml de la solution extractive étherique par le réactif de **Bornträger**. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé - rouge au violet - pourpre.

### III.8.9. Protocole d'identification des coumarines

Deux essais ont été réalisés :

- Evaporer 5 ml de la solution extractive étherique. Dissoudre le résidu dans 1 à 2 ml d'eau chaude. Diviser le volume en deux parties. Prendre le demi-volume comme témoin et ajouter à l'autre volume 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et les examinées sous la lumière UV. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.
- Placer 1g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH, et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. L'examen sous UV donne une fluorescence intense.

### III.8.10. Protocole d'identification des Anthocyanosides

Doser la solution aqueuse acide avec une solution de NaOH. S'il y a un virage de couleur en fonction du pH, la présence des anthocyanosides est confirmée.

- $\text{pH} < 3$  la solution prend une coloration rouge.
- $4 < \text{pH} < 6$  la solution prend une coloration bleue.

### III.8.11. Protocole d'identification Stérols et stéroïdes

Deux essais ont été effectués :

- ✓ Evaporer 10 ml d'extrait alcoolique, traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre puis filtrer. Mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 mn à 21°C).
- ✓ Evaporer l'extrait alcoolique correspondant à 10 ml puis dissoudre le résidu obtenu dans 0.5 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml de chloroforme. Traiter le filtrat avec le réactif de **Liebermann Burchardt**. Si une solution bleue - verte apparaît, elle indique la présence des hétérosides.

## III.9. Réactifs de caractérisation

### III.9.1. Alcaloïdes

- a) **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1,358 g de  $\text{HgCl}_2$  dans 60 ml d'eau. Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif une trouble plus un précipité blanc.
- b) **Réactif de Wagner** : Dissoudre 2 g de KI et 1,27 g d' $\text{I}_2$  dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec réactif un précipité brun.

### III.9.2. Amidon

✓ **Réactif d'amidon** : Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium. Chauffer pendant 5 mn. Diluer jusqu'à 500ml. Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à ébullition. Ajouter le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue- violacée.

### III.9.3. Stéroïdes, hétérosides stéroïdiques et triterpéniques

#### ✓ Réaction de Liebermann Burchardt

Mélanger 5 ml de solution à tester avec 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser la solution reposée 30 mn à 21°C. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert. D'autre part, cette réaction donne avec les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement des colorations Verte-bleue et verte-violette.

### III.9.4. Anthraquinones et Anthracénosides

#### ✓ Réaction de Bornträger

En milieu alcalin aqueux ces composés donnent à la solution une teinte vive variant, selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangée rouge au violet pourpre plus ou moins violacée.

### III.9.5. Composés réducteurs

#### a) Liqueur de Fehling :

La liqueur de Fehling est un mélange de deux solutions :

- Fehling A: dissoudre x g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dans 50 ml d'eau distillée.
- Fehling B: dissoudre 6,5g de NaOH, 17,3g de tartrate de sodium et potassium dans 35 ml d'eau distillée puis compléter le volume à 50 ml.

Les composés réducteurs donnent avec le réactif de Fehling un précipité rouge brique.

#### b) Réaction de Keller-killiani

L'addition de 5 ml d'acide sulfurique concentré contenant des traces de sels ferriques a une solution de volume 5 ml d'hétérosides dans l'acide acétique concentré contenant également des sels ferriques conduit à la formation d'un anneau brun-rouge. La solution acétique se colore lentement en bleu-vert.

### III.10. Analyse quantitative des composés polyphénoliques

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Rossien utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (F-C).

### III.10.1. Principe

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits, fractions et sous-fractions sont déterminées au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu [67]. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 765 nm. L'absorbance, par référence à une gamme étalon obtenue avec un acide phénolique (acide gallique), permet de déterminer la quantité de polyphénols totaux présente dans un extrait. Elle est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par g de matière sèche.

### III.10.2. Dosage des composés phénoliques totaux

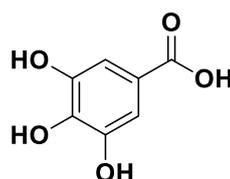
La teneur en phénols totaux des extraits aqueux des plantes qui font l'objet d'analyse a été déterminée par la méthode décrite par Singleton et coll [67]. Une quantité de 200 microlitres ( $\mu L$ ) des extraits de chaque échantillon est mélangé avec 1mL du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5%  $Na_2CO_3$ . L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30mn et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

Une courbe d'étalonnage ( $y=ax+b$ ) a été réalisée en parallèle par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le blanc est représenté donc par 200  $\mu L$  de méthanol, additionnée de 1mL du réactif de Folin-Ciocalteu et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5 %.

### III.10.3. Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Une gamme de 7 concentrations d'acide gallique allant de 0 à 1mg /mL a été préparée à partir d'une solution mère de 2 mg/mL de concentration.



Acide gallique

### III.10.4. Expressions des résultats

Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) de chaque partie des plantes en appliquant la formule suivante :

$$T = \frac{[\text{Extrait}] * V}{M}$$

**T** : La teneur en phénols totaux (mg EAG /g d'extrait).

**[Extrait]** : concentration de l'extrait brut établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

**M**: masse de l'extrait brut (= 0,2 10<sup>-3</sup> g)

**V** : Volume de l'extrait utilisé (= 0,2 ml)



Figure III.5. Spectrophotomètre utilisé pour le dosage.

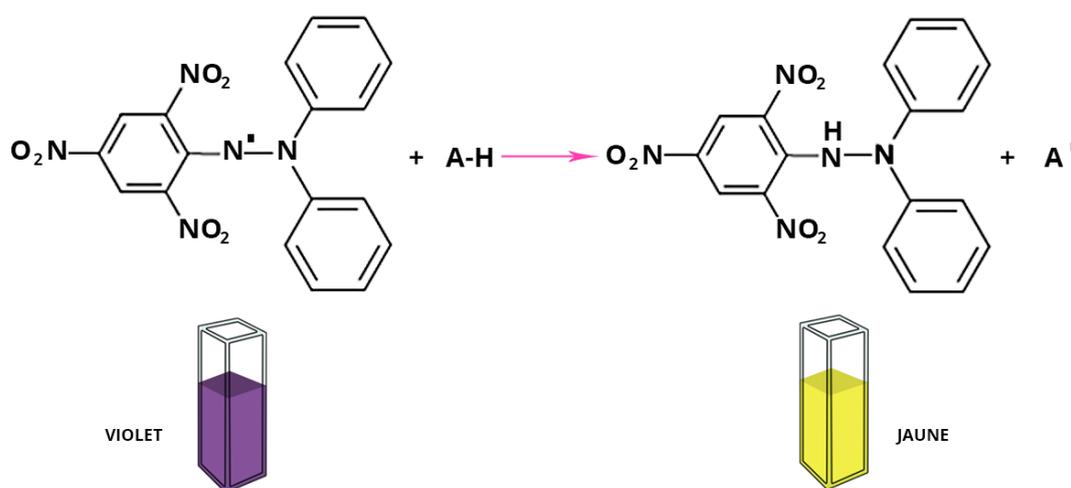


Figure III.6. Ensemble de nos échantillons à doser par spectrophotomètre.

### III.11. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

#### III.11.1. Principe du test de DPPH

La méthode de **Sanchez-Moreno et coll [68]** a été utilisée avec quelques modifications pour la détermination du potentiel antioxydant. Cette méthode consiste à mesurer l'activité antiradicalaire par la technique de piégeage du radical au DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH, ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$  ;  $PM=394,33$  g/mol), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle.



Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e.  $DPPH^{\bullet}$  reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de  $DPPH^{\bullet}$ . La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux  $DPPH^{\bullet}$ , mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- (i) la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques).
- (ii) la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes) [69].

Dans le cas des composés phénoliques ( $\Phi$ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH $\cdot$  alors transforme en une molécule stable DPPHH [69] :



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus ou moins stables :

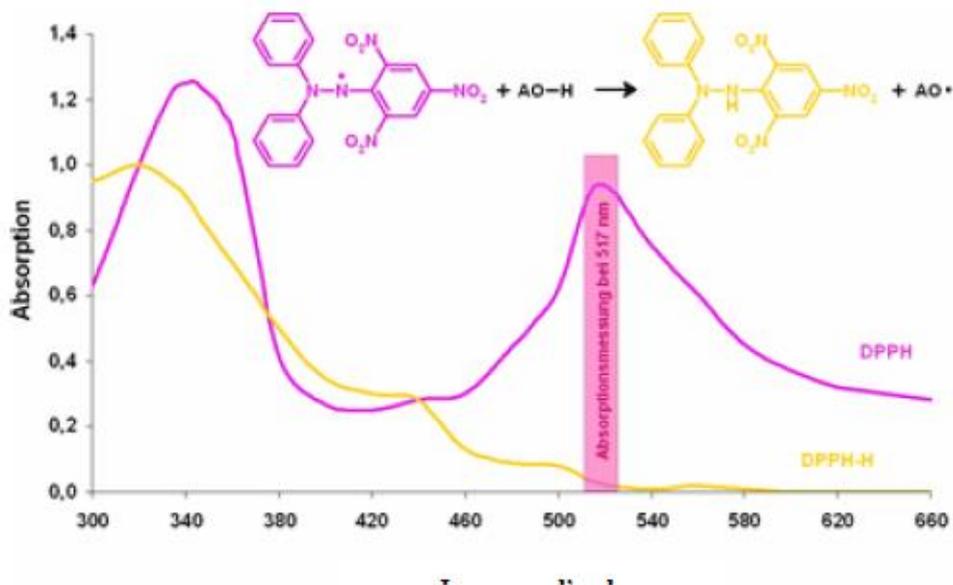
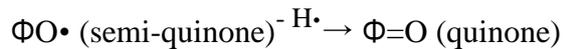
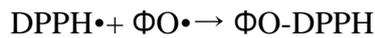
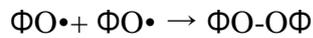


Figure III.7. Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive [70].

### III.11.2. Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie

L'activité antioxydante des extraits invitro a été testée selon la méthode de **Sanchez-Moreno et coll [78]**. Le test est effectué selon les étapes suivantes :

➤ **Préparation des extraits et de l'acide ascorbique :**

Les extraits aqueux secs et l'acide ascorbique (antioxydant de référence) dissous dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL ont été dilués à différentes concentrations décroissantes (1,0 – 0,5 - 0,25 - 0,125 - 0,0625 - 0,0312 - 0,0156 mg/mL).

➤ **Préparation de la solution de DPPH :**

Le DPPH a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution d'une concentration de  $6,34 \cdot 10^{-5}$  M (0,0025g DPPH dans 100 mL méthanol). La solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière.

➤ **Détermination du potentiel antioxydant :**

La détermination de pouvoir antioxydant est basée sur la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant. Cinquante microlitres (50µL) de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations ou de standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution du DPPH (0,025g/L). En parallèle, un contrôle négatif (blanc) est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à  $\lambda_{max}$  517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de trois mesures

### III.11.3. Expression des résultats

Le pourcentage de réduction ou d'inhibition du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$PI (\%) = [1 - (\frac{A_1}{A_0})] \times 100$$

**PI :** pouvoir d'inhibition en %.

**A<sub>0</sub>:** absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait

**A<sub>1</sub>:** absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait [71].

#### III.11.4. Calcul des concentrations 50 (IC<sub>50</sub>)

IC<sub>50</sub> (aussi appelée EC<sub>50</sub> : *Efficient concentration 50*), permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits utilisés.

#### III.11.5. Calcul des pourcentages de piégeage (Scavenging activity)

La capacité anti-radicalaire (capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne) ne peut être mesurée directement, mais par contrôle de l'effet de la réactivité. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier [72].

Nous pouvons déduire l'efficacité anti-radicalaire de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC<sub>50</sub> trouvée [72].

$$\text{EAR} = \frac{1}{\text{IC}_{50}}$$

L'efficacité anti-radicalaire est comparée à celle de l'acide ascorbique

#### IV.1. Teneurs en eau (ou l'humidité (H))

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans les poudres sèches de nos plantes. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve. Les taux d'humidité des différentes parties de deux plantes étudiées sont indiqués dans le tableau IV.1.

**Tableau IV.1 :** Le taux d'humidité dans les différentes parties de *Ruta Montana* et *Pistacia lentiscus*.

| <b>Plante / Echantillon</b>        |                            | <b>P (g)</b> | <b>masse d'eau (g) : <math>M_1 - M_2</math></b> | <b>H (%)</b> |
|------------------------------------|----------------------------|--------------|---|--------------|
| <b><i>Ruta Montana L</i></b>       | <i>Poudre des feuilles</i> | 2            | 0,38  | 19           |
|                                    | <i>Poudre des graines</i>  | 2            | 0,11  | 5,5          |
|                                    | <i>Poudre des rameaux</i>  | 2            | 0,4   | <b>20</b>    |
|                                    | <i>Poudre des tiges</i>    | 2            | 0,3   | 15           |
|                                    | <i>Poudre des racines</i>  | 2            | 0,4   | <b>20</b>    |
| <b><i>Pistacia lentiscus L</i></b> | <i>Poudre des feuilles</i> | 2            | 0,45  | <b>22,5</b>  |

Selon les résultats obtenus au tableau IV.1, il apparaît que les feuilles, les rameaux et les racines de *R. Montana* disposent le plus grand rendement comparativement parlant aux tiges et aux graines. Quant aux feuilles de *P. lentiscus* on a enregistré le rendement le plus important comparant aux parties de *R.Montana* qui est d'ordre **22,5 %**.

Le classement de la teneur en eau de *R.Montana* est comme suit :

$$eau (\%)_{racines} = eau (\%)_{rameaux} > eau (\%)_{feuilles} > eau (\%)_{tiges} > eau (\%)_{graines}$$

#### IV.2. Matière sèche (Ms)

La matière sèche ( $M_s$ ) de chaque partie des plantes est incorporée dans le tableau ci-dessous:

**Tableau IV.2 :** La matière sèche ( $M_s$ ) dans nos échantillons de *R. Montana* et *P. lentiscus* exprimée en (%).

| <b>Plante</b>                      | <b>Echantillon</b>         | <b><math>M_s = 100 - H\%</math></b> |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| <b><i>Ruta Montana L</i></b>       | <i>Poudre des feuilles</i> | 81                                  |
|                                    | <i>Poudre des graines</i>  | <b>94.5</b>                         |
|                                    | <i>Poudre des rameaux</i>  | 80                                  |
|                                    | <i>Poudre des tiges</i>    | 85                                  |
|                                    | <i>Poudre des racines</i>  | 80                                  |
| <b><i>Pistacia lentiscus L</i></b> | <i>Poudre des feuilles</i> | 77,5                                |

D'après le tableau IV.2, on peut dire que :

La poudre des graines contient le plus grand pourcentage en matière sèche par rapport aux autres parties des deux plantes *R. Montana* et *P. lentiscus*.

### IV.3. Le pH

Les valeurs obtenues des pH des extraits aqueux de nos échantillons étudiés sont regroupées dans le tableau IV.3.

**Tableau IV.3 :** pH des différents extraits aqueux de *R. Montana* et *P. lentiscus*.

| <b>Paramètre</b> | <i>R. Montana</i> |            |         |       |         | <i>P. lentiscus</i> |
|------------------|-------------------|------------|---------|-------|---------|---------------------|
|                  | Feuilles          | Graines    | rameaux | Tiges | Racines | Feuilles            |
| <b>pH</b>        | 5,8               | <b>6,2</b> | 5,7     | 5,8   | 5,5     | <b>3,9</b>          |

Les valeurs des pH obtenues pour *R. Montana* sont légèrement acides à presque neutre oscillent entre 5,5 et 6,2. Tandis que pour les feuilles de *P. lentiscus* on a enregistré une acidité remarquable qui vaut **3,9**.

### IV.4. Détermination du rendement d'extraction

$$R \% = \frac{\text{Masse du résidu obtenu}}{\text{Masse de la poudre végétale utilisée}} \times 100$$

Pour chaque échantillon, nous avons calculé le rendement de l'extraction, les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux suivants :

**Tableau IV.4 :** Données opératoires d'extractions par décoction effectuée sur les différentes parties de *R. Montana* et les feuilles de *P. lentiscus*.

| <b>Extraction par décoction</b>    |                        |                  |                        |                            |                               |                      |
|------------------------------------|------------------------|------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------|
| <i>plante</i>                      | <i>Partie utilisée</i> | <i>Masse (g)</i> | <i>solvant utilisé</i> | <i>Aspect de l'extrait</i> | <i>Masse de L'extrait (g)</i> | <i>Rendement (%)</i> |
| <b><i>Ruta Montana L</i></b>       | <i>Feuilles</i>        | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,26                          | 2,6                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,97                          | 9,7                  |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,98                          | <b>9,8</b>           |
|                                    | <i>Graines</i>         | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,27                          | 2,7                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,16                          | 1,6                  |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,99                          | <b>9,9</b>           |
|                                    | <i>Rameaux</i>         | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,26                          | 2,6                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,26                          | 2,6                  |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,72                          | <b>7,2</b>           |
|                                    | <i>Tiges</i>           | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,05                          | 0,5                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,93                          | <b>9,3</b>           |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,53                          | 5,3                  |
|                                    | <i>Racines</i>         | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,13                          | 1,3                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,51                          | <b>5,1</b>           |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,27                          | 2,7                  |
| <b><i>Pistacia lentiscus L</i></b> | <i>Feuilles</i>        | 10               | Ether diéthylique      | Visqueux                   | 0,18                          | 1,8                  |
|                                    |                        | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,85                          | 8,5                  |
|                                    |                        | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,98                          | <b>9,8</b>           |

**Tableau IV.5 :** Données opératoires d'extractions par infusion effectuée sur les différentes parties de *R. Montana* et les feuilles de *P. lentiscus*.

| <b>Extraction par infusion</b> |                                    |                  |                        |                            |                               |                      |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------|
| <i>plante</i>                  | <i>Partie utilisée</i>             | <i>Masse (g)</i> | <i>solvant utilisé</i> | <i>Aspect de l'extrait</i> | <i>Masse de L'extrait (g)</i> | <i>Rendement (%)</i> |
| <b><i>Ruta Montana L</i></b>   | <i>Feuilles</i>                    | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,97                          | <b>9,7</b>           |
|                                |                                    | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,98                          | <b>9,8</b>           |
|                                | <i>Graines</i>                     | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,27                          | 2,7                  |
|                                |                                    | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,99                          | <b>9,9</b>           |
|                                | <i>Rameaux</i>                     | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,26                          | 2,6                  |
|                                |                                    | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,70                          | <b>7,0</b>           |
|                                | <i>Tiges</i>                       | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,93                          | <b>9,3</b>           |
|                                |                                    | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,53                          | 5,3                  |
|                                | <i>Racines</i>                     | 10               | Ethanol                | Visqueux                   | 0,61                          | <b>6,1</b>           |
|                                |                                    | 10               | Eau                    | Visqueux                   | 0,27                          | 2,7                  |
|                                | <b><i>Pistacia lentiscus L</i></b> | <i>Feuilles</i>  | 10                     | Ethanol                    | Visqueux                      | 0,9                  |
| 10                             |                                    |                  | Eau                    | Visqueux                   | 0,98                          | <b>9,8</b>           |

**Tableau IV.6 :** Données opératoires d'extractions par macération effectuée sur les différentes parties de *R. Montana* et les feuilles de *P. lentiscus*.

| plante                       | Extraction par macération          |           |                 |                     |                        |               |            |
|------------------------------|------------------------------------|-----------|-----------------|---------------------|------------------------|---------------|------------|
|                              | Partie utilisée                    | Masse (g) | solvant utilisé | Aspect de l'extrait | Masse de L'extrait (g) | Rendement (%) |            |
| <b><i>Ruta Montana L</i></b> | Feuilles                           | 10        | Ethanol         | Visqueux            | 0,96                   | 9,6           |            |
|                              |                                    | 10        | Eau             | Visqueux            | 0,97                   | <b>9,7</b>    |            |
|                              | Graines                            | 10        | Ethanol         | Visqueux            | 0,16                   | 1,6           |            |
|                              |                                    | 10        | Eau             | Visqueux            | 0,98                   | <b>9,8</b>    |            |
|                              | Rameaux                            | 10        | Ethanol         | Visqueux            | 0,26                   | 2,6           |            |
|                              |                                    | 10        | Eau             | Visqueux            | 0,72                   | <b>7,2</b>    |            |
|                              | Tiges                              | 10        | Ethanol         | Visqueux            | 0,93                   | <b>9,3</b>    |            |
|                              |                                    | 10        | Eau             | Visqueux            | 0,53                   | 5,3           |            |
|                              | Racines                            | 10        | Ethanol         | Visqueux            | 0,51                   | <b>5,1</b>    |            |
|                              |                                    | 10        | Eau             | Visqueux            | 0,27                   | 2,7           |            |
|                              | <b><i>Pistacia lentiscus L</i></b> | Feuilles  | 10              | Ethanol             | Visqueux               | 0,85          | 8,5        |
|                              |                                    |           | 10              | Eau                 | Visqueux               | 0,97          | <b>9,7</b> |

Les tableaux montrent que, les rendements d'extraction varient en fonction du solvant d'extraction et la technique utilisée. Cependant, les rendements les plus importants sont enregistrés dans les graines suivis par des feuilles et en dernier les tiges.

L'eau exhibe un pouvoir d'extractant supérieur à celui d'ETOH et l'éther diéthylique dans les feuilles, les graines et les rameaux durant les trois modes de préparations.

Le classement du pouvoir d'extractant des solvants utilisés selon les parties étudiées est comme suit :

➤ **Extraction par décoction :**

Extrait aqueux des graines (9,9%) > Extrait aqueux des feuilles (9,8%) > Extrait ETOH des tiges (9,3 %) > Extrait aqueux des rameaux (7,2%) > Extrait ETOH des racines (5,1 %).

➤ **Extraction par infusion :**

Extrait aqueux des graines (9,8%) > Extrait aqueux des feuilles (9,7%) > Extrait ETOH des tiges (9,3 %) > Extrait aqueux des rameaux (7,0%) > Extrait ETOH des racines (6,1 %).

➤ **Extraction par macération :**

Extrait aqueux des graines (9,8%) > Extrait aqueux des feuilles (9,7%) > Extrait ETOH des tiges (9,3 %) > Extrait aqueux des rameaux (7,2%) > Extrait ETOH des racines (5,1 %).

Enfin, on constate que les extraits étheriques possèdent les rendements les plus faibles dans toutes les préparations comparant aux autres solvants.

#### IV.5. Criblage phytochimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur les extraits des parties de *R. Montana* L. et les feuilles de *P. lentiscus* L respectivement, préparés dans différents solvants de polarités différentes (eau, éthanol et éther diéthylique) par plusieurs modes de préparation.

Ces tests sont en relation entre l'intensité du précipité, de turbidité ou la coloration et la quantité de la substance recherchée.

Ainsi :

- ✓ Une réaction franchement positive est représentée par : +++
- ✓ Une réaction moyennement positive est représentée par : ++
- ✓ Une réaction faiblement positive est représentée par : +
- ✓ L'absence de la substance est représenté par : –

Les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques. Les résultats sont présentés dans les tableaux n° IV.7 à 9.

**Tableau IV.7** : Les résultats des tests phytochimiques des extraits aqueux obtenus par trois techniques d'extraction (ED, EI et EM).

| Les familles              |                | Plantes étudiées   | <i>R.Montana</i> |         |         |       |         |
|---------------------------|----------------|--------------------|------------------|---------|---------|-------|---------|
|                           |                | <i>P.lentiscus</i> | Feuilles         | graines | Rameaux | Tiges | Racines |
| Extraction par décoction  | Flavonoïdes    | ++                 | +++              | ++      | +       | +     | -       |
|                           | Alcaloïdes     | ++                 | +++              | ++      | ++      | ++    | ++      |
|                           | Tanins         | +++                | +                | +       | ++      | +     | +       |
|                           | Saponoside     | +++                | -                | +       | +++     | ++    | +       |
|                           | anthocynosides | +                  | -                | -       | -       | -     | -       |
|                           | Stérols        | ++                 | +                | +       | +       | ++    | +       |
|                           | Coumarines     | ++                 | ++               | +       | +       | +     | +       |
| Extraction par infusion   | Flavonoïdes    | +++                | +++              | ++      | +       | +     | -       |
|                           | Alcaloïdes     | ++                 | +++              | ++      | ++      | ++    | ++      |
|                           | Tanins         | +++                | +                | +       | ++      | +     | +       |
|                           | Saponoside     | +++                | -                | +       | +++     | ++    | +       |
|                           | anthocynosides | +                  | -                | -       | -       | -     | -       |
|                           | Stérols        | ++                 | +                | +       | +       | +     | +       |
|                           | Coumarines     | ++                 | ++               | +       | +       | +     | +       |
| Extraction par macération | Flavonoïdes    | ++                 | +++              | ++      | +       | +     | -       |
|                           | Alcaloïdes     | ++                 | +++              | ++      | ++      | ++    | +       |
|                           | Tanins         | +++                | +                | +       | ++      | +     | +       |
|                           | Saponoside     | +++                | -                | +       | +++     | ++    | +       |
|                           | anthocynosides | +                  | -                | -       | -       | -     | -       |
|                           | Stérols        | ++                 | +                | +       | +       | +     | +       |
|                           | Coumarines     | ++                 | ++               | +       | +       | +     | +       |

ED : extraction par décoction ; EI : extraction par infusion ; EM : extraction par macération

**Tableau IV.8** : Les résultats des tests phytochimiques des extraits éthanolique obtenus par trois techniques d'extraction (ED, EI et EM).

| Plantes étudiées<br>Les familles |                | <i>P.lentiscus</i> | <i>R.Montana</i> |                |                |              |                |
|----------------------------------|----------------|--------------------|------------------|----------------|----------------|--------------|----------------|
|                                  |                | <i>Feuilles</i>    | <i>Feuilles</i>  | <i>graines</i> | <i>Rameaux</i> | <i>Tiges</i> | <i>Racines</i> |
| Extraction par décoction         | Flavonoïdes    | + +                | + + +            | + +            | +              | +            | -              |
|                                  | Alcaloïdes     | + +                | + + +            | + +            | + +            | + +          | +              |
|                                  | Tanins         | +++                | +                | +              | ++             | +            | +              |
|                                  | Saponoside     | +++                | -                | +              | +++            | ++           | +              |
|                                  | anthocynosides | +                  | -                | -              | -              | -            | -              |
|                                  | Coumarines     | ++                 | ++               | +              | +              | +            | +              |
| Extraction par infusion          | Flavonoïdes    | + +                | + + +            | + +            | +              | +            | -              |
|                                  | Alcaloïdes     | + +                | + + +            | + +            | + +            | + +          | +              |
|                                  | Tanins         | +++                | +                | +              | ++             | +            | +              |
|                                  | Saponoside     | +++                | -                | +              | +++            | ++           | +              |
|                                  | anthocynosides | +                  | -                | -              | -              | -            | -              |
|                                  | Coumarines     | ++                 | ++               | +              | +              | +            | +              |
| Extraction par macération        | Flavonoïdes    | + +                | + + +            | + +            | +              | +            | -              |
|                                  | Alcaloïdes     | + +                | + + +            | + +            | + +            | + +          | +              |
|                                  | Tanins         | +++                | +                | +              | ++             | +            | +              |
|                                  | Saponoside     | +++                | -                | +              | +++            | ++           | +              |
|                                  | anthocynosides | +                  | -                | -              | -              | -            | -              |
|                                  | Coumarines     | ++                 | ++               | +              | +              | +            | +              |

**Tableau IV.9** : Les résultats des tests phytochimiques des extraits diétherique obtenus par une seule extraction (ED).

| Plantes étudiées<br>Les familles |                | <i>P.lentiscus</i> | <i>R. Montana</i> |                |                |              |                |
|----------------------------------|----------------|--------------------|-------------------|----------------|----------------|--------------|----------------|
|                                  |                | <i>Feuilles</i>    | <i>Feuilles</i>   | <i>graines</i> | <i>Rameaux</i> | <i>Tiges</i> | <i>Racines</i> |
| Extraction par décoction         | Flavonoïdes    | +                  | +                 | +              | +              | +            | -              |
|                                  | Alcaloïdes     | ++                 | +++               | ++             | ++             | ++           | +              |
|                                  | Tanins         | +                  | +                 | +              | ++             | +            | +              |
|                                  | Saponoside     | +++                | -                 | +              | +++            | ++           | +              |
|                                  | Stérols        | +                  | +                 | +              | +              | +            | +              |
|                                  | Anthocynosides | +                  | -                 | -              | -              | -            | -              |

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires.

D'après l'analyse de ces tableaux ci-dessus, nous constatons que :

- ✓ Les flavonoïdes existent dans les deux plantes choisies. Ils se trouvent en quantités plus importantes dans les feuilles par rapport aux autres parties sauf les racines ou nous avons marqué leur absence durant toutes les extractions.
- ✓ Nous avons remarqué que toutes les parties étudiées contiennent les alcaloïdes par des quantités équivalentes.
- ✓ Les tanins sont présents avec des quantités plus importantes dans les feuilles de *P.lentiscus* et les rameaux de *R. Montana*. Leur présence est confirmée par la réaction avec FeCl<sub>3</sub>.
- ✓ Le test de mousse indique que les saponosides se trouvent presque dans toutes les organes étudiées. Un seul cas négatif est enregistré dans les feuilles de *R. Montana*.
- ✓ Les stérols se présentent en quantité équivalentes dans toutes les parties des plantes.
- ✓ La mise en évidence des coumarines s'est manifestée positivement dans tous nos échantillons.

Enfin, les tests des anthocynosides sont marqués négatif dans les différentes préparations de *R. Montana*, par contre les feuilles de *P.lentiscus* ont révélé un test positif. Quant à l'extrait éthéré exhibe une pauvreté en métabolites secondaires. .

## IV.6. Teneur en polyphénols totaux

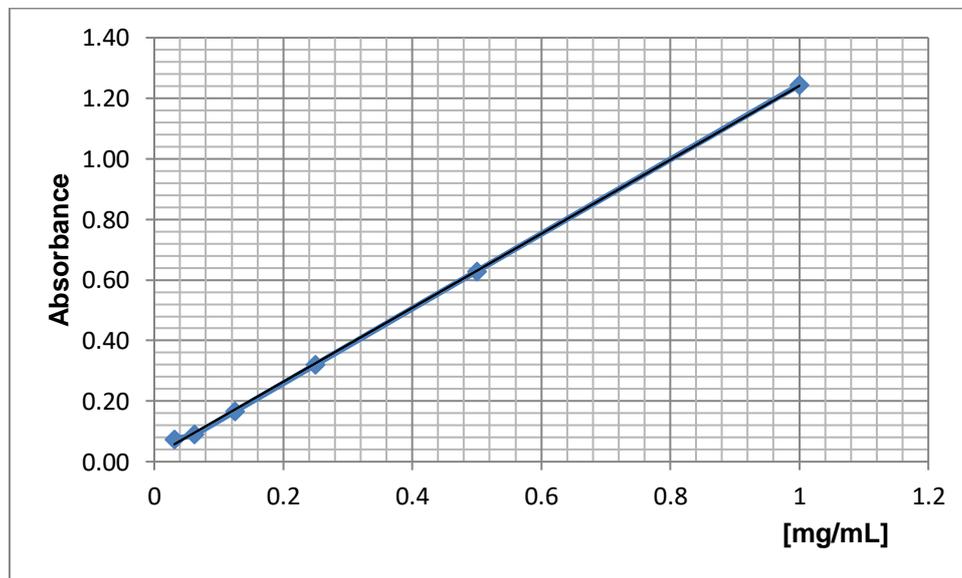
La teneur en polyphénols totaux des extraits a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu [73], qui a été choisie pour les raisons suivantes :

- C'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité.
- La méthode est bien standardisée.
- C'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche à travers le monde [74].

Les teneurs en composés polyphénols totaux obtenues à partir des extraits aqueux ont été déterminées grâce à une courbe d'étalonnage (figure IV.1), réalisée avec un produit de référence, l'acide gallique à différentes concentrations (Tableau IV.10).

**Tableau IV.10:** Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique dans l'eau.

| <b>Concentration en (mg/mL)</b> | <b>0,0312</b> | <b>0,0625</b> | <b>0,125</b> | <b>0,25</b> | <b>0,5</b> | <b>1</b> |
|---------------------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|------------|----------|
| <b>Absorbance à 765 nm</b>      | 0,082         | 0,098         | 0,175        | 0,329       | 0,636      | 1,252    |
|                                 | 0,066         | 0,082         | 0,159        | 0,313       | 0,62       | 1,236    |
| <b>Moyenne de l'absorbance</b>  | 0,074         | 0,090         | 0,167        | 0,321       | 0,628      | 1,244    |



**Figure IV.1.** Courbe d'étalonnages de l'acide gallique.

Les densités optiques (DO) de nos échantillons analysés par spectrophotomètre sont affichées dans le tableau suivant :

**Tableau IV.11 :** Résultats de dosage des composés phénoliques totaux des extraits.

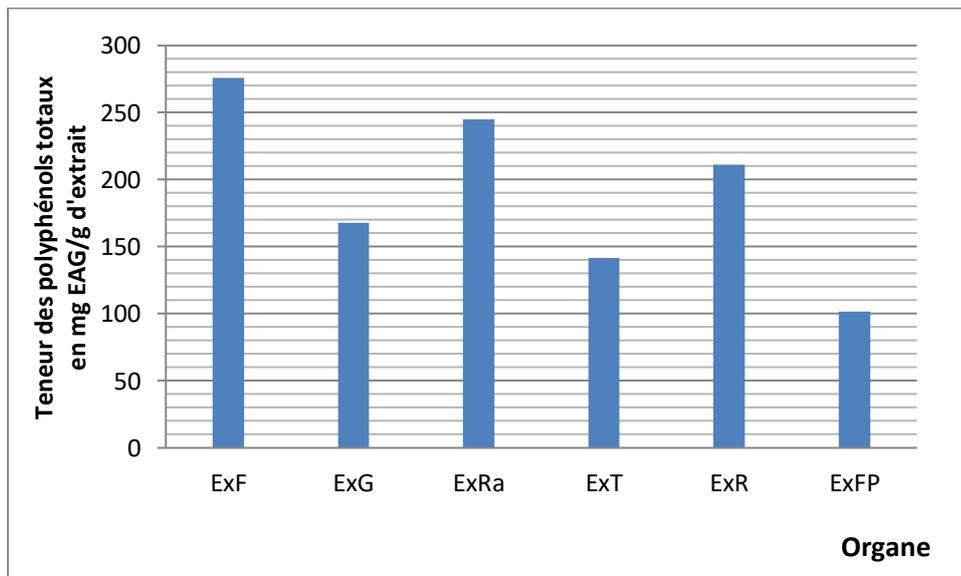
| plante<br>Extrait          | <i>P.lentiscus</i> | <i>R. Montana</i> |         |         |       |         |
|----------------------------|--------------------|-------------------|---------|---------|-------|---------|
|                            | Feuilles           | Feuilles          | Graines | Rameaux | Tiges | Racines |
| Absorbance à<br>765 nm     | 0,133              | 0,370             | 0,275   | 0,370   | 0,115 | 0,250   |
|                            | 0,136              | 0,336             | 0,179   | 0,310   | 0,207 | 0,281   |
|                            | 0,160              | 0,361             | 0,217   | 0,275   | 0,255 | 0,300   |
| Moyenne de<br>l'absorbance | 0,143              | 0,356             | 0,224   | 0,318   | 0,192 | 0,277   |

Les valeurs obtenues sont exprimée en équivalent d'acide gallique par g de l'extrait en utilisant l'équation de type :  $y = ax + b$  (tableau IV.12) et illustrée par la figure IV.2.

**Tableau IV.12 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits aqueux de *R.Montana* et *P.lentiscus* en mg EAG/g d'extrait (mode décoction).

| plante             | Extrait aqueux | Teneur en mg EAG/g d'extrait | Equation de la courbe d'étalonnage | R <sup>2</sup> |
|--------------------|----------------|------------------------------|------------------------------------|----------------|
| <i>R. Montana</i>  | ExF            | 276,00                       | Abs = 1,221 [AG] + 0,019           | 0,999          |
|                    | ExG            | 167,90                       |                                    |                |
|                    | ExRa           | 244,88                       |                                    |                |
|                    | ExT            | 141,69                       |                                    |                |
|                    | ExR            | 211,30                       |                                    |                |
| <i>P.lentiscus</i> | ExFP           | 101,56                       |                                    |                |

Abs : absorbance ; AG : acide gallique.



**Figure IV.2.** Histogrammes illustrant les teneurs des polyphénols totaux des différents extraits bruts de *R. Montana* et de *P.lentiscus* en mg EGA /g d'extrait.

EAG : équivalent d'acide gallique ; **ExF** : extrait aqueux des feuilles ; **ExG** : extrait aqueux des graines ; **ExRa** : extrait aqueux des rameaux ; **ExT** : extrait aqueux des tiges ; **ExR** : extrait aqueux des racines ; **ExFP** : extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*.

L'analyse des résultats obtenus (figure IV.2) montre que la teneur en phénols totaux dans les deux plantes est variable d'un extrait à l'autre. Les teneurs en polyphénols totaux des différentes fractions de *R. Montana* varient entre **141, 69** et **276 mg EAG/ g d'extrait**. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait aqueux des feuilles (ExF) avec un taux de **276 mg EAG/ g d'extrait**.

Il est à noter que nous avons enregistré que l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus* exhibe la plus faible teneur en phénols totaux avec un taux de **101,56 mg EAG/ g d'extrait**.

Il est important de souligner que l'utilisation d'espèce de plante, d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les différentes études.

#### IV.7. Huile essentielle (HE)

L'huile essentielle de *P.lentiscus* était extraite uniquement à partir des feuilles par le montage hydrodistillation.

**Tableau IV.13:** Le rendement d'huiles essentielles de *P.lentiscus*.

| Masses en gramme (g)      |             | Rendement (%) |
|---------------------------|-------------|---------------|
| Masse d'HE                | <b>0,15</b> | <b>0,15</b>   |
| Masse de la prise d'essai | <b>100</b>  |               |

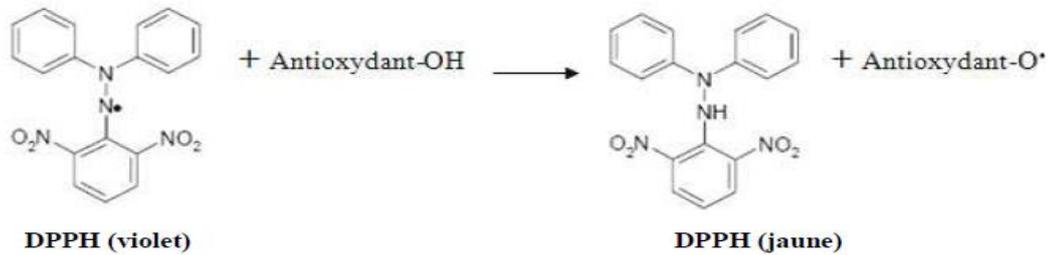
On constate que le rendement en huiles essentielles des feuilles est faible, il est de l'ordre de 0,15%. Ceci corrobore les résultats trouvés par Dop et al [75] qui étaient de l'ordre 0,11 à 0,20% et celui de 0,14% par Amhamdi et al [76].

#### IV.8. Evaluation du pouvoir antioxydant contre le DPPH

Dans notre étude, la mise en évidence du pouvoir antioxydant des différents extraits aqueux de deux plantes *R.Montana* et *P.lentiscusa* été évaluée par une technique chimique simple et rapide, il s'agit de piéger le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [68].

Il possède un électron célibataire sur un atome du pont d'azote. La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 514-518 nm (figure IV.3).



**Figure IV.3.** Réduction d'un antioxydant avec le radical DPPH.°

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée dans le chapitre matériel et méthodes. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes représentées dans les figures ci-dessous, qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de nos extraits. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC<sub>50</sub>).

#### IV.8.1. Pouvoir d'inhibition (PI) par l'acide ascorbique contre DPPH

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence pour estimer le pouvoir de réduction de nos extraits aqueux des deux plantes choisies au cours de notre étude.

**Tableau IV.14 :** Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique (A<sub>0</sub>= 0,747).

|  |              |       |       |       |        |        |
|--|--------------|-------|-------|-------|--------|--------|
| <b>Concentration de l'acide ascorbique (mg/mL)</b> | 1            | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| <b>Absorbance à 515 nm</b>                         | 0,090        | 0,100 | 0,400 | 0,500 | 0,599  | 0,677  |
| <b>% d' inhibition de DPPH</b>                     | <b>87,95</b> | 86,61 | 46,45 | 33,07 | 19,81  | 9,37   |

La variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration en acide ascorbique a été illustrée par la figure suivante :

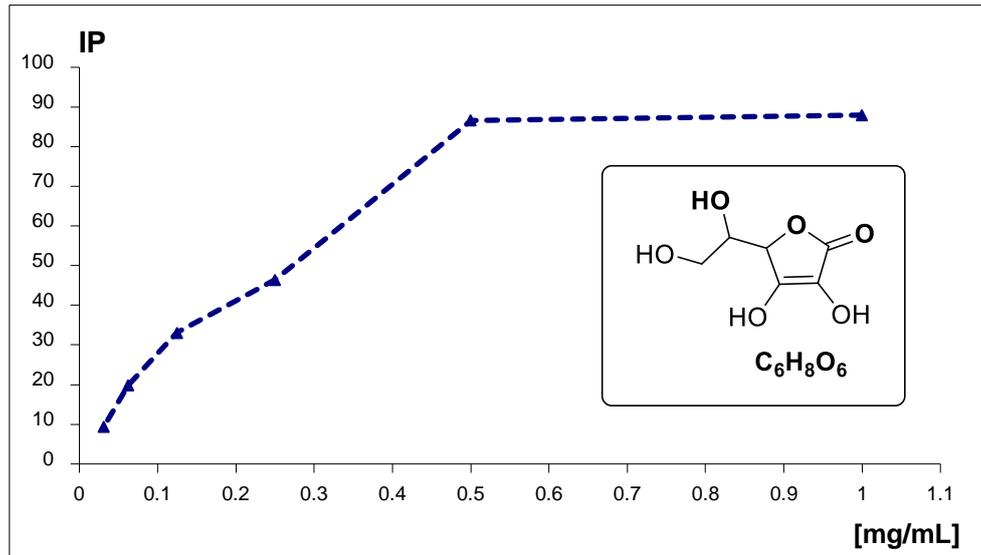


Figure IV.4. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.

#### IV.8.2. *Ruta Montan L*

Dans le présent travail, nous avons ciblé uniquement l'extrait aqueux par la préparation décoction afin d'évaluer l'activité anti radicalaire contre le radical libre DPPH.

Tableau VI.15 : Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des feuilles.

|                           | Feuilles ( $A_0 = 0,700$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Concentration [mg/mL]     | 1                          | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,366                      | 0,382 | 0,516 | 0,585 | 0,6    | 0,6    |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | 47,71                      | 45,43 | 26,29 | 16,43 | 14,29  | 14,29  |

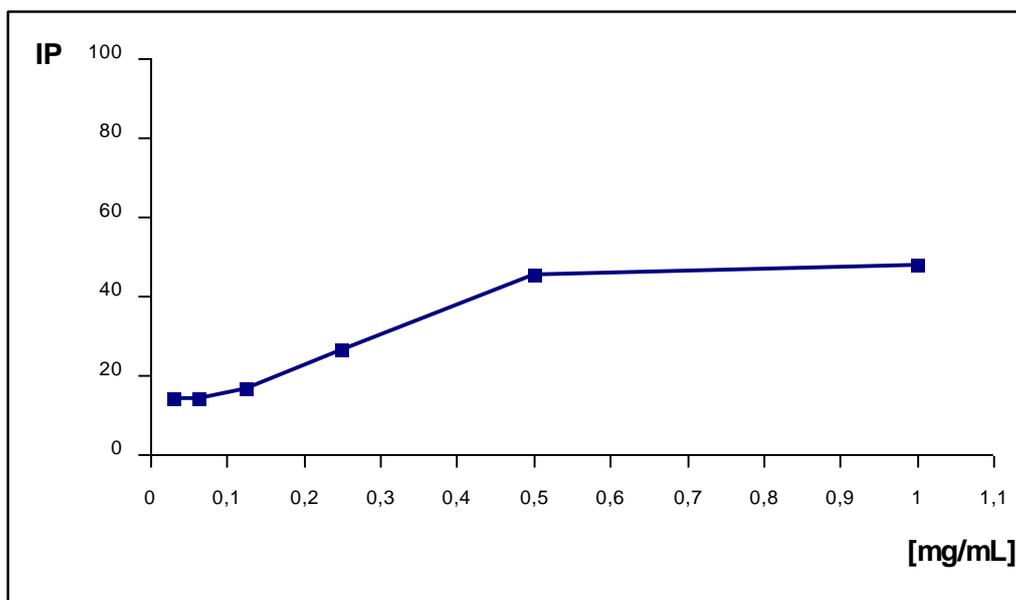
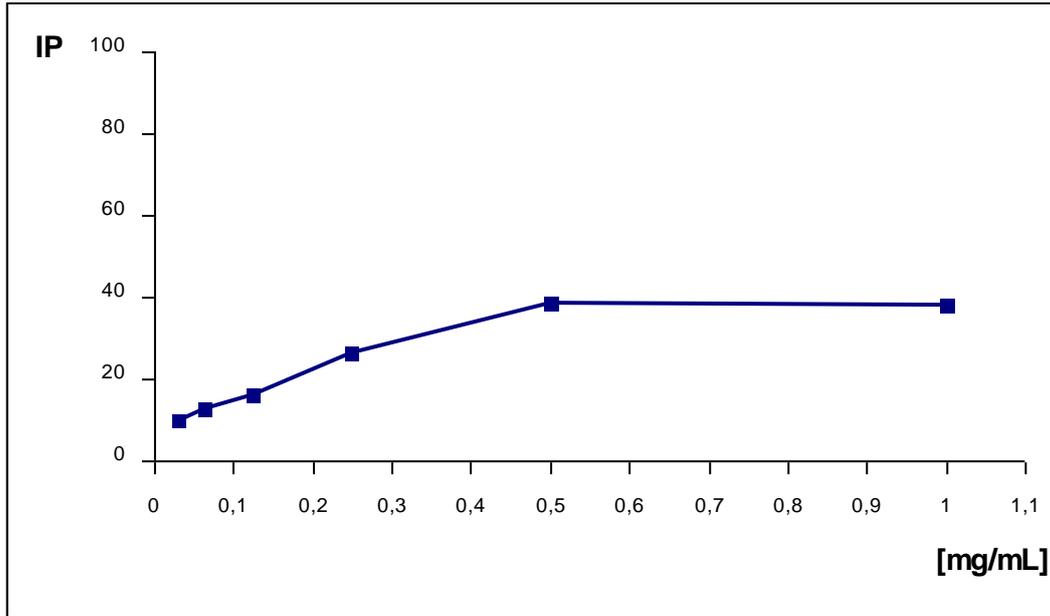


Figure IV.5. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des feuilles.

**Tableau IV.16 :** Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des graines.

| Concentration [mg/mL]     | Graines ( $A_0 = 0,700$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                           | 1                         | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,433                     | 0,43  | 0,514 | 0,588 | 0,61   | 0,633  |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | <b>38,14</b>              | 38,57 | 26,57 | 16,00 | 12,86  | 9,57   |



**Figure IV.6.** Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des graines.

**Tableau IV.17 :** Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des rameaux.

| Concentration [mg/mL]     | Rameaux ( $A_0 = 0,689$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                           | 1                         | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,243                     | 0,251 | 0,525 | 0,545 | 0,563  | 0,59   |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | <b>64,73</b>              | 63,57 | 23,80 | 20,90 | 18,29  | 14,37  |

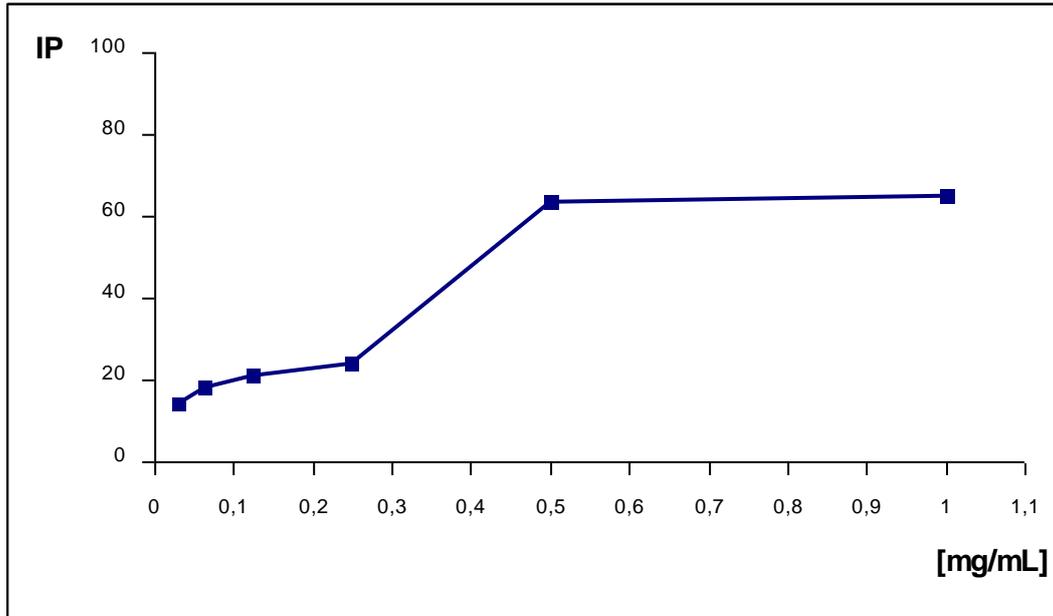


Figure IV.7. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des rameaux.

Tableau IV.18 : Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des tiges.

| Concentration [mg/mL]     | Tiges ( $A_0 = 0,689$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                           | 1                       | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,334                   | 0,382 | 0,485 | 0,552 | 0,557  | 0,597  |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | 51,52                   | 44,56 | 29,61 | 19,88 | 19,16  | 13,35  |

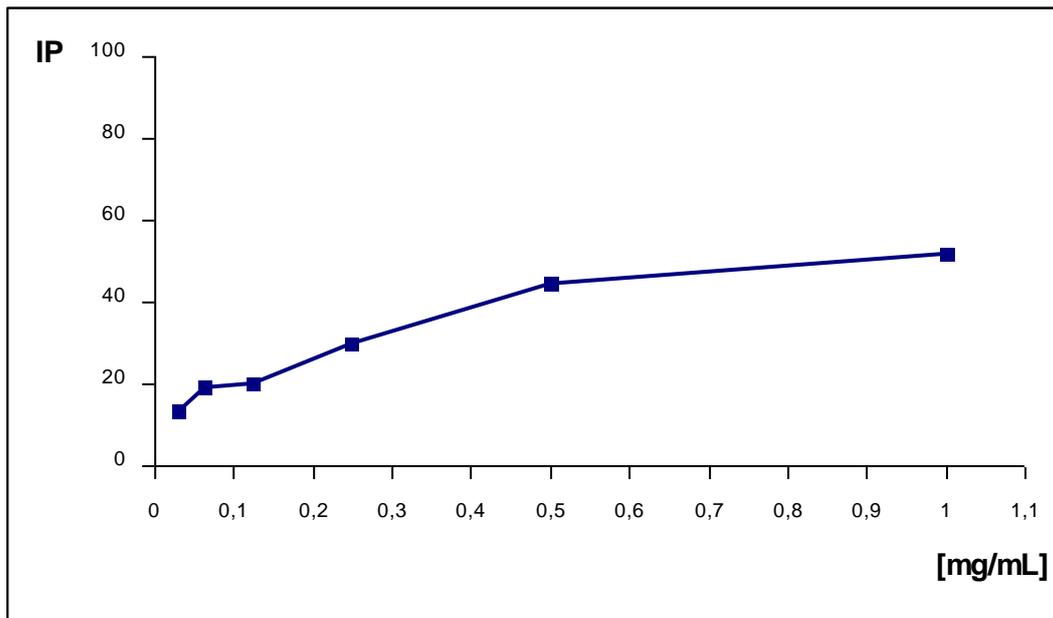
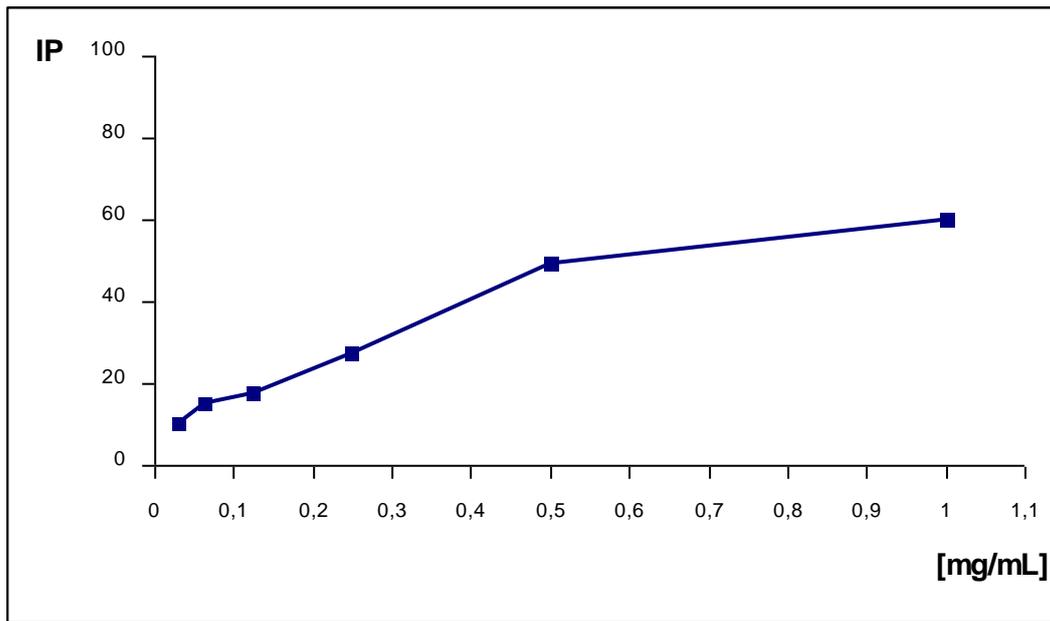


Figure IV.8. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des tiges.

**Tableau IV.19** : Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des racines.

| Concentration [mg/mL]     | Racines ( $A_0 = 0,689$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                           | 1                         | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,275                     | 0,351 | 0,5   | 0,567 | 0,584  | 0,617  |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | <b>60,09</b>              | 49,06 | 27,43 | 17,71 | 15,24  | 10,45  |



**Figure IV.9.** Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des racines.

D'après les résultats obtenus à partir des figures IV.5 à IV.9, il apparaît que l'extrait aqueux brut des rameaux plus actif que les autres extraits par un pourcentage d'inhibition égale **64,73**. Mais ce pouvoir antioxydant reste néanmoins nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique qui vaut **87,95**.

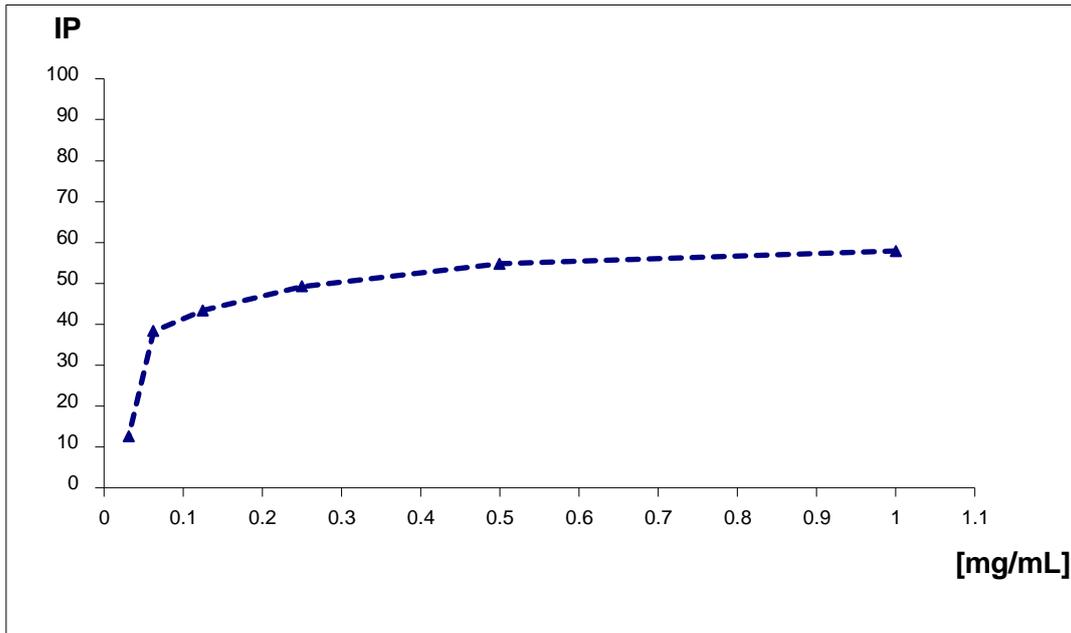
Le plus faible pouvoir d'inhibition a été trouvé dans l'extrait aqueux des graines par une valeur qui valent **38,14%**.

#### **IV.8.3. *Pistacia lentiscus L***

Pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles a été évaluée in vitro en utilisant le radical libre DPPH. Le tableau IV.20 présente le pourcentage d'inhibition (IP) des différentes concentrations testées.

**Tableau IV.20 :** Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*.

|                           | Feuilles ( $A_0 = 0,689$ ) |       |       |       |        |        |
|---------------------------|----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Concentration [mg/mL]     | 1                          | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,0312 |
| Absorbance à 515 nm       | 0,29                       | 0,312 | 0,35  | 0,39  | 0,425  | 0,602  |
| Pouvoir d'inhibition (IP) | <b>57,91</b>               | 54,72 | 49,20 | 43,40 | 38,32  | 12,63  |



**Figure IV.10.** Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles exhibe un pouvoir de réduire le radical DPPH à **57,91%** dépassant ainsi les seuils de 50%, contrairement à quelques extraits aqueux de *R. Montana*.

#### IV.8.4. Calcul des IC50

La capacité antioxydante de nos différents extraits a été déterminée à partir des IC50. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. L'IC50 et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels [77].

Nous avons calculé les IC50 pour chaque extrait à partir de l'équation logarithmique de la courbe tracée, les valeurs sont représentées dans le tableau IV.21.

**Tableau IV.21** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits et de l'acide Ascorbique.

|                         | Extrait aqueux | Equation logarithmique            | IC <sub>50</sub> [mg/mL] |
|-------------------------|----------------|-----------------------------------|--------------------------|
| <i>R. Montana</i>       | Feuilles       | $y = 11,142\text{Ln}(x) + 46,716$ | 1,342                    |
|                         | Graines        | $y = 9,5005\text{Ln}(x) + 40,085$ | 2,838                    |
|                         | Rameaux        | $y = 16,092\text{Ln}(x) + 62,167$ | <b>0,469</b>             |
|                         | Tiges          | $y = 11,404\text{Ln}(x) + 49,446$ | 1,049                    |
|                         | Racines        | $y = 14,807\text{Ln}(x) + 55,657$ | 0,683                    |
| <i>P. lentiscus</i>     | Feuilles       | $y = 11,59\text{ln}(x) + 62,79$   | <b>0,332</b>             |
| <i>Acide Ascorbique</i> |                | $y = 24,99\text{ln}(x) + 90,55$   | <b>0,197</b>             |

$y = \text{IP}$  et  $x = [\text{mg/mL}]$

D'après le tableau IV.21, nous remarquons en premier lieu que tous nos extraits ont des activités moins importantes que la substance de référence, l'acide ascorbique (CI<sub>50</sub> = **0,197** mg/mL).

On peut dire que l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* présente une activité antioxydante intéressante (CI<sub>50</sub> = **0,332** mg/mL). Mais Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique (CI<sub>50</sub> = **0,197** mg/mL), mais il s'agit d'extrait brut contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'il contient des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de la l'acide ascorbique. En revanche, les extraits aqueux de *R. Montana* ont affiché des activités antioxydantes (IC<sub>50</sub>) moins importantes oscillant entre **0,469** et **2, 838** mg/mL.

#### IV.8.5. Le calcul de l'efficacité antiradicalaire (EAR)

La l'efficacité anti-radicalaire (EAR) de nos échantillons a été déterminée à partir d'IC<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats.

EAR est inversement proportionnel à l'IC<sub>50</sub> (tableau IV.22).

$$\text{EAR} = \frac{1}{\text{IC}_{50}}$$

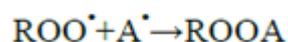
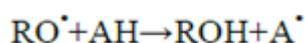
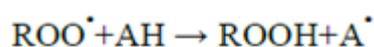
On constate que, plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande [78].

**Tableau IV.22** : Valeurs des efficacités antiradicalaires (EAR) des différents extraits et de l'acide Ascorbique.

| Extrait    | <i>R. Montana</i> |        |         |       |         | <i>P. lentiscus</i> | Acide Ascorbique |
|------------|-------------------|--------|---------|-------|---------|---------------------|------------------|
|            | Feuilles          | Grains | Rameaux | Tiges | Racines | Feuilles            |                  |
| <b>EAR</b> | 0,75              | 0,35   | 2,13    | 0,95  | 1,46    | <b>3,01</b>         | <b>5,08</b>      |

- ✚ D'après le tableau IV.22, nous remarquons en premier lieu que tous nos extraits ont des activités antiradicalaires moins importantes que la substance de référence, l'acide ascorbique (**5,08**).
- ✚ En second lieu, l'extrait des feuilles de *P.lentiscus* (EAR = **3,01**) est généralement le plus actif par rapport aux autres extraits aqueux.
- ✚ Au sein des extraits aqueux bruts de *R. Montana*, on peut les classer selon l'ordre décroissant d'activité antioxydante comme suit : Acide ascorbique > Extrait aqueux des rameaux > Extrait aqueux des racines > Extrait aqueux des tiges > Extrait aqueux des feuilles > Extrait aqueux des graines.

En conclusion, de nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des composés phénoliques et leur capacités antioxydantes, l'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leur structures. BOLAND et TENHAVE ont postulé en 1947 les réactions selon lesquelles les composés phénoliques (AH) interfèrent avec l'oxydation des lipides en cédant leurs hydrogènes aux radicaux lipidiques, puis entrent en compétition avec les réactions de propagation [79].



L'efficacité de l'antioxydant (AH) augmente si la force de la liaison A-H est faible et le radical (A) résultant doit être le plus stable possible, ce qui est le cas pour les composés phénoliques et flavonoïdes, se sont des meilleurs donneurs d'électron ou d'hydrogène [78].

Plusieurs études ont montrés que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques sont responsables de leurs pouvoirs antioxydants [80].

Enfin, les activités de nos extraits sont moyennes en général et sont très proches à ceux obtenus par beaucoup de chercheurs.

## CONCLUSION GENERALE

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plants contiennent une variété des métabolites secondaires auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités anti- oxydantes.

Ainsi, dans le contexte actuel de recrudescence de l'efficacité et spectre d'activité des médicaments contre une grande variété d'espèces bactériennes et fongiques responsables des infections nosocomiales, la nécessité de la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité.

Dans ce contexte, nous avons contribué à la valorisation chimique de deux plantes médicinales, il s'agit de *Ruta Montana L* (Fidjel) et *Pistacia lentiscus L* (*Darou*) qui sont largement utilisées par la population locale grâce à leurs vertus thérapeutiques remarquables.

Dans le présent travail, notre étude a débuté par une identification botanique détaillée de *R. Montana* et de *P. lentiscus* au département de biologie par le Pr Terras M, suivie d'un screening phytochimique. Ce dernier est indispensable car il nous permet d'avoir une idée claire sur les différents métabolites secondaires existants dans les différentes parties des plantes et ce malgré l'étude bibliographique poussée que nous avons réalisée sur sa composition chimique.

Les tests de caractérisation ont montré que les deux plantes sont riches en métabolites secondaires ou nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des saponosides, des alcaloïdes et des stérols.

Le rendement d'extraction donné par l'eau était le plus important (9,9 %) pour les trois modes de préparations choisies à savoir la décoction, l'infusion et la macération. Quant au l'éthanol lui-même à révélé un pouvoir d'extractant moins importantes que l'eau mais meilleur que l'éther diéthylique.

L'huile essentielle de *P. lentiscus* obtenue par la technique hydro distillation a donné un rendement trop faible estimé de 0,15%.

La quantification des composés phénoliques totaux a été évaluée par la méthode de Folin Ciocalteu en utilisant le spectrophotomètre comme un moyen de dosage. Les résultats ont montré que nos plantes sont riches en phénols surtout *R. Montana* par une teneur maximale atteignant à 276 mg EAG/ g d'extrait dans l'extrait brut des feuilles. En revanche *P. lentiscus* a donné la teneur la plus basse de 101,56 mg EAG/ g d'extrait.

Cette étude a permis également de mettre en évidence efficacité des antioxydants présents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*. Ces derniers sont dotés d'une activité anti- radicalire importante de  $IC_{50} = 0,332$  mg/mL comparable à celle de l'antioxydant de référence qui l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 0,197$  mg/mL), encourageant son utilisation dans l'industrie agroalimentaire comme antioxydant naturel ainsi que sa valorisation dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de *Pistacia lentiscus* et de *Ruta Montana* comme deux plantes médicinales traditionnelles très largement utilisée par les populations du nord de l'Afrique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Ozenda, P. (1983).** Flore du Sahara, 2<sup>ème</sup> Ed. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), PARIS, France, 250-259.
- [2] **MA, B., Hieter, P., et Boeke, J.D. (1997).** Petits cadres de lecture ouverts de belles aiguilles dans la palette se foin , Genome Res, 7 (8) :768 71.
- [3] **Ameenah, G. (2006).** Plantes médicinales : tradition d’hier et drogues de demain, Molecular aspects of Medicine. 27 :1-93.
- [4] **Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A. (2010).** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kenitra. Revue LAZA. 31 (9) :133.
- [5] **Futura santé.** Définition-plante médicinale, principe-actif substance-active [en ligne]. Disponible sur : [http:// :www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com).
- [6] **Iserin, P.M. (2001).** Encyclopedia of medecinal plants (2<sup>nd</sup> Edition ed). (T.D.F. Edith ybert, Ed., &P, Vican,Trans) Larousee -Bordas (1997). ISBN: 2-03-560252-1.P.6-16, 18-53,335p
- [7] **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L’actualité chimique, p.108-115..
- [8] **Cavalier, C., Dupriez, C., Huret, J. M., Louisar L., Nebon D., Mence L. (2015).** La phytothérapie ou « l’art de soigner par les plantes... ». La Phytothérapie parmi les autres moyens thérapeutiques. Unité d’enseignement 2.11 semestre 5 « pharmacologie et thérapeutiques ». p 12.
- [9] **Chevallier. (2001).** Encyclopedia des plantes médicinales. Edit. La rousse, Paris, pp16, 293, 295.
- [10] **Haudret, J.C. (2004).** Bien se soigner par les plantes. 1<sup>ère</sup> édition. Paris : Ed SOLAR.
- [11] **Baba Aissa. (2000).** Les plantes médicinales en Algérie Edit. Bouchéne et AD. Diwan, Alger, p 368.
- [12] **Aili. (1999).** Se soigné par les plantes. Edit .Betri, Paris, p 188.
- [13] **Benkada, D., Tabti, B. (2006).** Influence de la lumière et de la température du jour sur la teneur et la composition chimique de l’HE de *Thymus ciliatus*. II<sup>ème</sup> Symposium International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales, Marrakech, Maroc.
- [14] **Allinger, N.L., Cava, M.P., Dejoughe, C.R., Jonhson, C.R., Lebel, N.A. et Stevens, C.L. (1975).** Chimie organique, Edi science Mc Graw. Hill, Paris, p 813.
- [15] **Finar, I.L. (1994).** Organic chemistry. Ed. Longman scientific and technical, Vol II, p. 354-356.

- [16] **Fournier, P. (1948).** Les plantes médicinales et vénéneuses en France. Ed Paul Lechvalier, tome III, Paris, p.356-361.
- [17] **Hammiche, V., Azzouz, M. (2013).** Les rues « ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité », phytothérapie 11 : 22-30.
- [18] **Thielens, A. (1862).** Flore médicale, Belge, p.255-256.
- [19] **Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertique méridionales. Tome 2, CNRS, Paris. p.592.
- [20] **Forment, M., Roques, H. (1941).** Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Ed. OFALAC, p.59.
- [21] **Kabouche Z., Benkiki, N., Seguin, E., Bruneau, C. (2003).** A new dicoumarinyl ether and two rare furocoumarins from *Ruta Montana*. *Fitoterapia*, 74: 194-196.
- [22] **Zellagui, A., Belkassam, A., Belaidi, A., Gherraf, N. (2012a).** Environmental impact on the Chemical Composition and yield of essential oils of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L and their antioxidant and antibacterial activities. *Advances in Environmental Biology*, 6(10):2684-2688.
- [23] **Daoudi, A. Najem, M. Bachir, L. Ibijbijen, J. et Nassiri, L. (2015).** *Journal of Animal & Plant Sciences (J.Anim. Plant Sci. ISSN 2071-7024)*, 40(3): 6712-6 730.
- [24] **Hammiche, V. Merad, R. et Azzouz, M. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, Springer. P.212.
- [25] **Kambouche, N., Merah, B., Bellahouel, S., Bouayed, J. (2008).** Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta Montana* L. Essential Oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food*, 11(3):593-595.
- [26] **Ghalem B.R., Benhassaini H. (2007).** Etude des phytostérols et des acides gras *Pistachia atlantica*. *Afrique Science*. 3(3):405-412.
- [27] **Cherif, A. (2016).** Effet cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus*. L) sur les brûlures expérimentales chez le rat, Doctorat, université constantine 1.
- [28] **AL-Saghir M. G., Porter, D.M. (2012).** Taxonomic Revision of the *Genus Pistacia* L. (*Anacardiaceae*). *American Journal of Plant Sciences*. 3:12-32.
- [29] **Villar, A., Sanz, M.J., and Payo M. (1987).** Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L , *International Journal Crude Drug Research*, 25:1-3.
- [30] **Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui K. (2014).** Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phénolic compounds of *Pistacia Lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1):77-91.

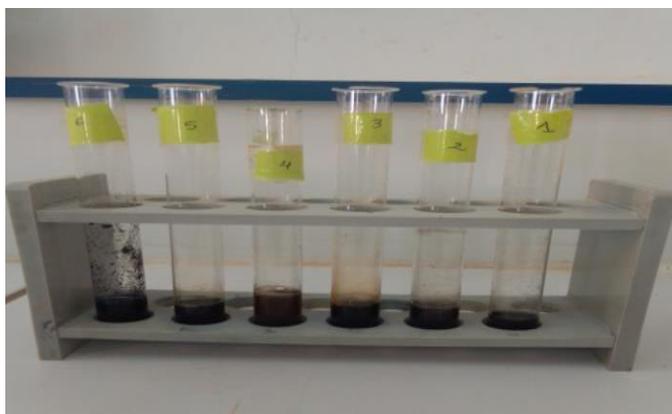
- [31] **Amhamdi, H., Aoutini, F., Jean Paul Wathelet, JP., Elbachri, Ali. (2009).** Chemical Composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L, from eastern Maroco. Records of Natural Produces. 3:90-95.
- [32] **FAO. (1993).** Codex alimentaire ; Graisse ; Huile et Dérivés, édition FAO, 8 :3-6.
- [33] **Leprieur, M. (1860).** Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de bruxelles, p. 614-615.
- [34] **Charef, M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P., (2008).** Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, J Am Oil Chem Soc, 85:921-924. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1283-1>
- [35] **Lugasi A., Hovari J., SagiK., and Biro L., 2003:** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica. Szegediensis.* 47 (14):119-125.
- [36] **Walton n.J. et Brown D.E. (1999).** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC, p.1-14.
- [37] **Lebham. (2005).** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- [38] **King A. and Young G. (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.Jof the American dietetic association. 99: 213-218.
- [39] **Sarni-Manchad, P., & Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, Éd Tec & Doc. *Coll. Sci. & Techn. Agroaliment., Lavoisier, Paris.*
- [40] **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie, Vol 3(4) : 162-169.*
- [41] **Beecher, G. R. (2003).** Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutri., 133 (10): 3248S-3254S.*
- [42] **Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux, Paris, p.113-120.
- [43] **Bruneton, J. (199).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier. Technique et documentation, Paris, 2<sup>ème</sup> Edition, p. 267-291.
- [44] **Andersson, C.M. Hallberg, A., Högberg, T. (1996).** Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research* 28:65-180.
- [45] **Harborne, J.B., Williams, C. A. (2000).** Advances in Flavonoid Research since 1992, *Phytochemistry, 55:481-504.*

- [46] **Harborne, J.B. (1983).** The flavonoids of the Rutales In: Waterman, P.G., Grondon, M.F (eds.), Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. Academic Press, London, UK, p.147-174.
- [47] **Encyclopaedia Universalis. (1998).** France S.
- [48] **Heimeur, N., Idrissi Hassani L.M.& Amine Serghini ,N. (2004).** Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). 3(01):37-42.
- [49] **Paris, M., Haisbielle, H. (1981).** Abrégé de Matière Médicinale (Pharmacognosie), Tome I, Ed. Masson, Paris.
- [50] **Harbone J.B., Bascter H. (1999).** The HandBook Of Natural Flavonoids, Vol. 2, Wiley, chichester.
- [51] **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed. Lavoisier. Paris. P. 274-285.
- [52] **Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L A., Favela-Torres, E., Aguilar, C. N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins, Applied Microbiology and Biotechnology, 78: 189-199.
- [53] **Fogliani, B. (2002).** De la connaissance physiologique des *Cunoniaceae* endémiques de la leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en physiologie végétale et phytochimie, p. 42-52.
- [54] **Haslam, E. (1989).** Plant polyphenols: vegetale tannins revisited cambridge university, Pres, Combridge. p230.
- [55] **Delluc, L. (2004).** Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin. Thèse de doctorat de l'université Bordeaux, p.310.
- [56] **Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U., Kraus,W .(1998).** Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark, Phytochemistry, 48:647-650.
- [57] **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ième Ed. Lavoisier, p1268.
- [58] **Paris, M., Hurabielle, M. (1981).** Matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson, Tome 1, Paris, p.26-67.
- [59] **Mpondo, E. M., Yinyang, J., Dibong, S. D. (2015).** Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). journal of applied Biosciences, 85(1):7804-7823.
- [60] **Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016).** Huiles essentielles et composés organique volatils, rôles et intérêts. Phytothérapie, 14(1): 44-57.
- [61] **Richter, G. (1993).** Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.

- [62] **Bisoli, E., Garcez, W. S., Hamerski, L., Tieppo, C., Garcez, F. R. (2008).** Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. *Molecules*, 13(11):2717- 2728.
- [63] **Hopkins, W. G. (2003).** *Physiologie végétale*. 2<sup>ème</sup> Edition américaine : Boeck et Lancier S A, Paris. p514.
- [64] **Audigie, C. L. (1978).** *Manipulation d'analyse biochimique*. Ed. Doin. Paris, p. 27-74.
- [65] **Linden, G. (1981).** *Principales techniques d'analyse*. Vol 2.Ed Tec et Doc-Lavoisier. Paris, p434.
- [66] **Yao, K.; De Luca, V.& Brisson N. (1995).** Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to *Phytophthora infestans*. *Plant, Cell*. 7: 1787-1799.
- [67] **Nait Achour Khaled (2012).** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus, Mémoire de Magister, UMBB, Décembre.
- [68] **Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299:152-178.
- [69] **Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-calixto, F. A. (1998).** Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Sci. Technology International*, 8:121-137.
- [70] **Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M. & Hara, Y. (1996).** Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Md*. 21(6):895-902.
- [71] **Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf, A. (2010).** Screening of the Antioxidant Potential of Some Algerian Indigenous Plants. *Journal of Biological Sciences*. 10: 316-324
- [72] **Molyneux, P. (2004).** The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26 (2):211-219.
- [73] **Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1841-1856.
- [74] **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102:771-776.
- [75] **Prakash, D., Upadhyay, G., Brahma, N., Singh, H.B. (2007).** Singh antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean; *Food Chemistry* 104: 783-790.

- [76] **Dob, T., Dahmane, D., Chelghoum, C. (2006).** Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia Lentiscus* L. From Algeria. *Journal of Essential Oil Resear.* 18(3): 335- 338.
- [77] **Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J.P., Elbachiri, A. (2009).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia Lentiscus* L. From Eastern Morocco, *Rec. Nat. Prod.* 3(2):90-95.
- [78] **Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (2001).** Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.
- [79] **Shahidi, F., Naczk, M. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography A* 1054; Ed: ELSEVIER, p. 95-111.
- [80] **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal Nutr. Biochem.* 13:572-584.

### Les réactions de caractérisation positive



**Photo n° 1.** Résultat du test des tanins de *Ruta Montana* : racines (1), tiges (2), rameaux (3), feuilles (4), graines (5) et feuilles (6) de *P. lentiscus* (ED, EI, EM).



**Photo n° 2.** Les résultats du test des saponoside de *Ruta Montana* : racines (1), tiges (2), rameaux (3) ; feuilles (4) ; grains (5) et feuilles (6) de *P. Lentiscus*.



**Photo n° 3.** Les résultats du test des flavonoïdes de *Ruta Montana* : racines (1), tiges (2), rameaux (3), feuilles (4), graines (5) et feuilles de *P. lentiscus* (6).

## Annexe

---



**Photo n° 4.** Les résultats du test alcaloïdes de *Ruta Montana* : racines (1), tiges (2), rameaux (3), feuilles (4), graines (5) et feuilles de *P. lentiscus* (6).



**Photo n° 5.** Les résultats du test Amidon de *R. Montana* : racines (1), tiges (2), rameaux (3), feuilles (4), graines (5) et feuilles (6) de *P. lentiscus*.

## RESUME :

Nos travaux de recherche ont porté sur la valorisation phytochimique de deux plantes médicinales présentes dans notre biomasse et utilisées par la population de Saida : *Ruta Montana L.*, et (Fidjel) et *Pistacia lentiscus L.* (Darou). Les résultats des tests de caractérisations ont révélés la présence de flavonoïdes, tanins, saponosides, coumarines, d'alcaloïdes et de stérols. Les taux d'extraction sont déterminés à partir de trois méthodes d'extraction à savoir la macération, l'infusion et la décoction en utilisant des solvants de polarités différentes. Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par l'eau dans les trois préparations avec une moyenne similaire de 9,8% pour *R. Montana* et *P. lentiscus*. Le dosage des phénols totaux montre que *R. Montana* riche en polyphénols ou la teneur maximale été mesurée dans l'extrait aqueux des feuilles avec une valeur égale à 276 mg EAG/ g d'extrait. La dernière étape a été consacrée à l'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits aqueux bruts contre le radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* a une activité antioxydante la plus importante de  $IC_{50} = 0,332$  mg/mL. D'après ces résultats obtenus dans ce travail, on peut dire que les plantes étudiées possèdent des activités biologiques intéressantes qui méritent d'être approfondies.

**Mots clés :** Méthode d'extraction, DPPH, *Ruta Montana L.*, *Pistacia lentiscus L.*

## ABSTRACT :

Our research focused on the phytochemical enhancement of two medicinal plants present in our biomass and used by the population of Saida: *Ruta Montana L.*, and *Pistacia lentiscus L.* The results of the characterization tests revealed the presence of flavonoids, tannins, saponosids, coumarins, alkaloids and sterols. Extraction rates are determined from three extraction methods namely maceration, infusion and decoction using solvents of different polarities. The best extraction yields are recorded by water in all three preparations with a similar average of 9.8% for *R. Montana* and *P. lentiscus*. The determination of total phenols shows that *R. Montana* rich in polyphenols or the maximum content was measured in the aqueous extract of the leaves with a value equal to 276 mg EAG / g of extract. The last step was devoted to the evaluation of the antioxidant activity of our crude aqueous extracts against the free radical DPPH. The results obtained showed that the aqueous extract of the leaves of *P. lentiscus* has important antioxidant activity by a value  $IC_{50} = 0.332$  mg / mL. Based on these results obtained in this work, we can say that the plants studied have interesting biological activities that deserve to be further explored.

**Key words:** Extraction method, DPPH, *Ruta Montana L.*, *Pistacia lentiscus L.*

## ملخص :

ركز بحثنا على التقييم الكيميائي النباتي لنبتين طبيين موجودين في الكتلة الحيوية لدينا ويستخدمهما سكان سعيدة : نبتة الفيجل (*Ruta Montana L.*) و نبتة الدرو (*Pistacia lentiscus L.*). أظهرت نتائج اختبارات التوصيف وجود مركبات : الفلافونويد ، العفص ، الصابونوز ، الكومارين ، القلويدات والستيرويدات. تم تحديد معدلات الاستخلاص من خلال ثلاث طرق استخلاص وهي النقع والتسريب والتغلي باستخدام المذيبات ذات القطبية المختلفة. تم تسجيل أفضل إنتاجية عن طريق الماء في جميع المستحضرات الثلاثة بمتوسط مماثل قدره 9.8% لكل من *R. Montana* و *P. lentiscus*. وضح تقدير إجمالي الفينولات أن *R. Montana* غنية بالبوليفينول أين تم تسجيل أقصى محتوى في المستخلص المائي للأوراق بقيمة تساوي 276 مغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من المستخلص. تم تخصيص الخطوة الأخيرة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة المستخلصات المائية الخامة ضد الجذور الحرة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص المائي لأوراق *P. lentiscus* يحتوي على النشاط المضاد للأكسدة الأكثر فعالية بقيمة  $IC_{50} = 0.332$  مغ/ مل. بناءً على هذه النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل ، يمكننا القول أن النباتات المدروسة لديها أنشطة بيولوجية مثيرة للاهتمام تستحق المزيد من الاستكشاف.

**الكلمات المفتاحية :** طرق الاستخراج ، DPPH ، *Ruta Montana L.* (الفيجل) ، *Pistacia lentiscus L.* (الدرو).